

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Zoologie



Bc. Zuzana Krejčířová

Latitudinální a altitudinální změny v morfologii spermií a v odhadované míře promiskuity u
pěvců

Latitudinal and altitudinal trends in sperm morphology and estimated levels of promiscuity in
passerine birds

Diplomová práce

Školitel: prof. Mgr. Tomáš Albrecht, Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 29. 4. 2019

Zuzana Krejčířová

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli, Tomáši Albrechtovi, za odborné vedení práce a trpělivost, kterou se mnou měl. Dále pak Helče, Aničce, Lukášovi a Pavlíně za pomoc v laboratoři a při statistickém zpracování. V neposlední řadě pak díky patří mé rodině a příteli, kteří mě během celého studia podporovali.

Abstrakt

Sexuální promiskuita, tedy to, že samice kopulují s více než jedním samcem, je poměrně běžným jevem u společensky monogamních ptáků, a to zejména u pěvců. Předpokládá se, že toto chování ovlivňuje vývoj různých anatomických rysů spojených se samčí schopností překonat ostatní samce v kompetici spermií. Vysoká míra promiskuity je ve vícedruhových srovnáních spojena s vyšší relativní velikostí varlat, může ale také ovlivnit fenotyp spermií a další samčí fenotypy. Morfologie spermií se zřetelně liší mezi jednotlivými ptačími druhy a některé studie naznačují, že stabilizační postkopulační selekce na délku spermií je zodpovědná za spojení mezisamčí variability v délce spermií a úrovně promiskuity. Nicméně spojení mezi dalšími fenotypovými znaky a promiskuitou zůstává nejasné. V této studii se zaměřuji na charakteristiky spermií ve vztahu k odhadnuté míře promiskuity u pěvců tropické a temperátní klimatické zóny, a na altitudinálním gradientu v tropech. Zjistila jsem, že koeficient variability v délce spermií, mezisamčí (CV_{bm}) i vnitrosamčí (CV_{wm}), byl dobrým indexem promiskuity. Také odhaluji relativní velikost kloakálního výčnělku jako anatomický znak úzce spojený s úrovní kompetice spermií mezi druhy. Nenašla jsem žádné spojení mezi latitudou či altitudou a odhadovanou mírou promiskuity. Naproti tomu celková délka spermií se měnila napříč oběma těmito ekologickými gradienty, přičemž tropické nížinné druhy měly nejkratší spermie. Populační hustota, rozsah altitud, migrační vzdálenost, velikost snůšky a hmotnost těla neměly žádný vliv na odhadovanou úroveň promiskuity, což naznačuje slabé nebo žádné spojení sexuální promiskuity a základních znaků ekologie nebo životní strategie u pěvců.

Klíčová slova: kloakální výčnělek, mimopárová paternita, pěvci, variabilita v délce spermií, velikost spermií

Abstract

Sexual promiscuity, whereby females copulate with more than one male, is a quite common phenomenon in socially monogamous birds, and especially in songbirds. This behavior is assumed to influence the evolution of various anatomical traits associated with male ability to outcompete other males in the process of sperm competition. High promiscuity is, in a multi-species comparison, associated with higher relative testis mass, but may also affect sperm phenotypes and other male phenotypes. Sperm morphology is clearly differentiated across avian species and some studies suggest that stabilizing post-copulatory selection on sperm length is responsible for a clear association of between male variation in sperm length and levels of promiscuity. However, the association between other phenotypic traits and promiscuity remains less clear. In this study, I focus on sperm characteristics in relation to the estimated levels of promiscuity in songbirds of tropical and temperate zone climates, and across an altitudinal gradient in the tropics. I found that the coefficient of variation in sperm length, both between males (CV_{bm}) and within males (CV_{wm}), was indeed a good index of promiscuity. I also reveal the size of cloacal protuberance as an anatomical trait intimately associated with the level of sperm competition across species. I found no association between latitude or altitude and estimated levels of promiscuity. In contrast, total sperm length was changed across both ecological gradients, with tropical lowland species having shortest sperm cells. Population density, altitudinal range, migration distance, clutch size and body mass had no effect on estimated promiscuity levels, indicating weak or absent association between sexual promiscuity and basic ecology or life history traits in songbirds.

Key words: cloacal protuberance, extra-pair paternity, passerines, variation in sperm length, sperm size

OBSAH

1. Úvod	8
1.1. Spermie.....	10
1.2. Promiskuita.....	11
1.2.1. Postkopulační pohlavní výběr	13
1.2.1.1. Samičí kryptická volba	13
1.2.1.1.1. Samičí orgány na skladování spermií	14
1.2.1.2. Kompetice spermií.....	16
1.2.2. Kovariáty promiskuity.....	16
1.2.2.1. Délka spermií	17
1.2.2.2. Variabilita v délce spermií.....	17
1.2.2.3. Kloakální výčnělek.....	18
1.2.3. Spojení promiskuity se znaky životní strategie a ekologie	20
1.2.3.1. Populační hustota	22
1.2.3.2. Rozmnožovací synchronizace	22
1.2.3.3. Migrace.....	23
1.2.3.4. Rodičovská péče.....	24
1.2.3.5. Délka života.....	25
2. Cíle práce	27
3. Metodika	28
3.1. Lokality.....	28
3.2. Odchyt a sběr dat	28
3.3. Analýza dat	28
3.3.1. Měření spermií.....	28
3.3.2. Určení variability v délce spermií	29
3.3.3. Velikost kloakálního výčnělku	30
3.3.4. Příprava datových sad.....	30
3.3.5. Statistické analýzy	31
4. Výsledky	33
4.1. Vliv znaků spermií na míru promiskuity	33
4.2. Velikost kloakálního výčnělku a míra kompetice spermií	37
4.3. Znaky spermií a parametry ekologie a životní strategie	40

5. Diskuse	45
5.1. Znaky spermií a míra promiskuity.....	45
5.2. Kloakální výčnělku a míra promiskuity	46
5.3. Znaky spermií a parametry ekologie a životní strategie.....	48
6. Závěr	52
7. Seznam použité literatury	53
8. Přílohy	61

1. ÚVOD

Poměrně dlouhou dobu se předpokládalo, že více než 90 % ptáků je monogamních (Lack 1968). Teprve později se ukázalo, že tato monogamie je u mnoha druhů pouze sociální, tedy že samice žije jen s jedním samcem. Na genetické úrovni už však často ptačí samice monogamní nejsou a kopulují s dalšími samci mimo sociální pár - mimopárovými partnery (Rowe a Pruett-Jones 2006). V současné době převažuje názor, že genetická monogamie je spíše velmi vzácná a že naopak mimopárové rozmnožování převládá (Griffith *et al.* 2002). Zatím však byla prozkoumána pouze menší část celosvětové diverzity ptačích druhů.

S výběrem vzorku studovaných druhů je spojen zásadní problém výzkumu promiskuity, ale i dalších jevů, jako například obecně životních strategií. Většina studií se totiž týkala ptáků temperátní oblasti a tyto druhy jsou poměrně dobře prozkoumané. Ty poté sloužily jako modelové i pro tropické druhy, a to i přesto, že druhy z temperátní oblasti představují jen 25 % celosvětové ptačí diverzity a většina druhů žije a rozmnožuje se v tropické oblasti (Martin 2004, Macedo 2008). Tropickými druhy se zabývalo výrazně méně, obzvláště pokud se jedná o paleotropickou oblast (Reddy 2014), a o jejich životě toho víme velmi málo. Stutchbury a Morton (2001) tento stav nazvali „temperátním zkreslením“ (v originále „temperate bias“).

Tropické druhy jsou od temperátních značně odlišné. Zásadní rozdíl můžeme najít například v jejich životních strategiích, tedy způsobu přerozdělení investic do reprodukce a do přežití, kde představují spíše pomalou životní strategii s dlouhým životem a malým reprodukčním úsilím (např. Jetz *et al.* 2008). Temperátní druhy zastupují rychlou životní strategii, mají kratší život a velké investice do rozmnožování. Různé aspekty těchto životních strategií souvisí s prostředím, ve kterém se daný druh vyskytuje, a s tím, jakým problémům musí čelit, a společně s ekologií mohou ovlivňovat i rozmnožovací systémy.

Právě ze znalosti rozdílné rychlosti života mezi tropickými a temperátními druhy vzešel předpoklad, že tropické druhy by také měly být méně promiskuitní. Samci dlouho žijících druhů by neměli tolerovat vysokou promiskuitu, protože jednotlivá rozmnožování pro ně představují jen malou část jejich celkového reprodukčního úspěchu (Mauck *et al.* 1999, Arnold a Owens 2002) a v budoucnu je zřejmě čeká řada dalších rozmnožovacích pokusů. Proto v případě, je-li příliš vysoká pravděpodobnost, že mláďata v hnízdě nejsou jejich vlastní, mohou snížit či úplně odeprít otcovskou péči. Ačkoliv jasná podpora pro tuto hypotézu chybí, dlouhověké druhy ptáků se opravdu vyznačují nižší mírou sexuální promiskuity a mimopárových paternit (EPP, z anglického extra-pair paternity) nežli druhy

krátkověké (Griffith *et al.* 2002, Arnold a Owens 2002). Skutečná míra promiskuity byla však v rámci tropických druhů dodnes zkoumána jen u jejich zlomku. Autoři některých studií z toho, a z výše uvedeného teoretického předpokladu, již začali vyvozovat, že tropické druhy mají nízkou míru promiskuity oproti temperátním druhům a že by mohl existovat latitudinální trend (Stutchbury a Morton 2001). Jde ovšem o velmi předčasné závěry, jak ukázaly některé další výzkumy (Albrecht *et al.* 2013). Z těch vyplývá, že je třeba získat další poznatky o promiskuitě. Zkoumání temperátních druhů a jejich příbuzných tropických protějšků, které se liší v jednom zásadním aspektu, by mohlo pomoci pochopit faktory ovlivňující míru promiskuity (Macedo 2008). Další možností je například zkoumání druhů, které obývají širokou škálu stanovišť a zeměpisných šířek. Studie tropických druhů samotných také mohou prověřit již navržené hypotézy, protože v rámci tropů je k dispozici široká škála různých prostředí s odlišnými podmínkami a ptáci podle nich vykazují různé klíčové parametry ekologie nebo životní strategie (Niklison *et al.* 2008, Stutchbury *et al.* 2007). Dobrým příkladem mohou být třeba tropické horské druhy, které se v některých směrech přibližují druhům z temperátní oblasti (Martin 2004).

Zkoumání míry promiskuity pomocí EPP je nákladné, není to však jediná možnost. Promiskuita ovlivňuje také fenotypové znaky ptačích samců, proto lze v jejím určení využít spermií (Lifjeld *et al.* 2010), relativní velikost varlat (Møller 1991, Pitcher *et al.* 2005) nebo relativní velikost kloakálního výběžku (viz výsledky této práce).

V této práci se zabývám mírou promiskuity, odhadnutou za pomoci znaků spermií, u pěvců z tropické a temperátní oblasti. Hodnotím, jestli zde existuje latitudinální nebo altitudinální trend a zda je odhadovaná míra promiskuity ovlivněna vybranými parametry ekologie nebo životní strategie. Dále zkoumám vztah promiskuity a velikosti kloakálního výčnělku, který je dodnes přehlíženým anatomickým znakem souvisejícím s uskládáváním spermií před inseminací a který by díky tomu mohl souviset s kompeticí spermií. Zatím byl jeho vztah s promiskuitou zkoumán jen v jediné studii (Birkhead *et al.* 1993). Ta je ovšem poměrně nepřesná, protože druhy dělí pouze na promiskuitní a nepromiskuitní a neuvažuje o možnosti sociálně monogamních druhů s mimopárovým rozmnožováním. Toto je tedy první práce zabývající se srovnáním relativní velikosti kloakálního výčnělku (jeho objemu a výšky) a míry promiskuity odhadnuté pomocí úrovně mimopárových paternit (EPP).

1.1. Spermie

Již dlouhou dobu jsou spermie oblíbeným objektem studia, což zapříčinila jejich obrovská diverzita v rámci živočichů a na buňku neobvyklý život (Pitnick *et al.* 2009). Mnoho prací se zaměřilo na rozmanitou morfologii spermií, která může být překvapivá vzhledem ke společné funkci těchto buněk – tedy úspěšnému oplodnění vajíčka. Zdá se, že stavba spermií je tak specifická, že například u hmyzu, je možné podle ní určit zařazení jedince od kmene až po rod a druh (Jamieson 1987) a může být nápomocná při stanovování fylogeneze. S touto rozmanitostí souvisí způsob oplodnění, fylogeneze a zřejmě také postkopulační pohlavní výběr, i když jeho důležitost zatím není jasná (Snook 2005).

Spermie u pěvců mají unikátní stavbu, jejich tvar je spirálovitý a nepohybují se mrskáním bičíku jako spermie ostatních ptáků, ale tak, že se celá spermie otáčí kolem podélné osy. Můžeme na nich rozeznat dvě části – hlavičku a bičík (Obr. 1). Na hlavičce je dobře vidět apikální akrosom, který pomáhá spermii proniknout obalem vajíčka. Bičík je tvořen prodlouženým krčkem s jedinou mitochondrií omotanou okolo ocásku (střední část, midpiece), která zásobuje spermii energií, a dále pak volným ocáskem (Humphreys 1977, Rowe *et al.* 2013). Tento fenotyp je zdá se velmi stabilní (Briskie a Montgomerie 1992) a spermie se v rámci pěvců liší hlavně v poměru velikosti různých částí (hlavička, krček, ocásek) a v celkové délce spermií (Birkhead *et al.* 2005) (viz níže). Tyto rozdíly však mohou být značné, a to i mezi blízce příbuznými druhy. U některých druhů nebo i poddruhů stačila relativně krátká doba (150-350 tis. let – několik poddruhů slavíka modráčka, *Luscinia svecica*; Hogner *et al.* 2013), aby se spermie morfologicky odlišily. Mezi některými jinými druhy zase téměř nebyly zjištěny rozdíly mezi spermiemi přesto, že se druhy oddělily před výrazně delší dobou (před 600 tis. – 1,5 mil. lety – hýl obecný, *Pyrrhula pyrrhula* a hýl azorský, *Pyrrhula murina*; Lifjeld *et al.* 2013). Zdá se tedy, že rychlost evoluce spermií u některých druhů může být značná a může tak přispívat k reprodukční izolaci populace a následné speciaci. Hnací silou této rychlé evoluce může být intenzivní postkopulační pohlavní výběr u daného druhu (Rowe *et al.* 2015), na toto téma však zatím existuje jen velmi málo prací.

Produkce spermií byla dlouhou dobu považována za málo nákladnou. Tento předpoklad vychází z obrovského množství produkovaných spermií. Zdá se však, že tomu tak být nemusí. Každý ejakulát je následován pauzou na obnovení zásob spermií. Samci různého sociálního postavení také určují, jak velkým ejakulátem budou inseminovat danou samici (Parker 1990), což by při nízkých nákladech nebylo třeba, protože by při každé inseminaci

mohli využít nejvyšší možné množství spermií. Měření nákladů na výrobu spermií je obtížné, protože probíhá často zároveň s dalšími energeticky nákladnými aktivitami, jako je kompetice samců o samice (Birkhead 2000).

1.2. Promiskuita

Reprodukce, a to nejen u ptáků, je vědecky velmi oblíbeným tématem. V průběhu posledních desetiletí zde došlo k několika významným objevům, které změnily pohled na tento zásadní proces v životě každého organismu. V dřívějších letech byla reprodukce považována za kooperaci samců a samic, kteří společně usilují o zachování daného druhu (Brennan v Birkhead 2000). V takovém případě by se dalo předpokládat, že by mělo rozmnožování probíhat co nejjednodušeji. Ale rozmnožování jednoduchým procesem rozhodně není. Myšlenku rozmnožování jako kooperace přehodnotil Parker (1979), který přišel s tím, že rozmnožování je spíše konflikt mezi pohlavími, kdy se samice i samci snaží maximalizovat přínosy a minimalizovat náklady. Každé pohlaví tedy hledá různé behaviorální či fyziologické strategie, pomocí kterých by získávalo převahu.

V rámci ptáků můžeme vidět různé rozmnožovací systémy, od monogamie se svazkem jedné samice a jednoho samce přes polygamii, kdy jedno pohlaví tvoří skupinku s více zástupci opačného pohlaví, až po promiskuitní systém, kdy se svazky netvoří a jedinci se rozmnožují s kýmkoli. V této práci je ale promiskuita brána spíše jako mimopárové rozmnožování v rámci sociálního rozmnožovacího systému s párovým nebo skupinovým svazkem. Obzvláště u monogamních druhů byla zjištěna vysoká míra promiskuity, kdy více než 75 % těchto druhů podvádí své partnery (Griffith *et al.* 2002). Toto podvádění bylo původně připisováno jen samcům a samice byly považované za pouhé pasivní účastnice. Vycházelo to z předpokladu, že jen samci mají z mimopárových kopulací výhody, konkrétně, že mají vyšší reprodukční úspěch, protože zplodí více potomků (Bateman 1948). Ovšem další pozorování ukázala, že se i samice aktivně zapojují do mimopárového rozmnožování. Začaly se proto zvažovat možné přínosy pro samici. Samice, na rozdíl od samců, nemohou dalšími kopulacemi zvýšit počet svých potomků, zdá se ale, že mohou zvýšit jejich kvalitu, protože srovnání spermií od více samců jim umožní vybrat ty s nejvhodnějším genotypem (např. dobré geny, genová kompatibilita; Kempenaers *et al.* 1997, Kempenaers *et al.* 1999).

První měření promiskuity byla provedena prostřednictvím sledování mimopárových kopulací, což nemusí být příliš přesná metoda, jelikož ptačí kopulace bývají velmi rychlé. Kromě toho, jak bylo zjištěno později, ne všechny mimopárové kopulace musí nutně vést

k mimopárovému oplodnění, vzhledem k působení kompetice spermií a samičí kryptické volby. Dnes se k určení míry promiskuity používá buď přímé měření pomocí genetiky, nebo nepřímé skrze takzvané indexy. V rámci přímého měření se určuje míra mimopárové paternity (EPP), v závislosti na tom, kolik mimopárových potomků se nalézá v hnízdech nebo počet hnízd, která obsahují alespoň jednoho mimopárového potomka. Tato metoda je sice přesná, ale taková data je často velmi obtížné získat, jelikož je třeba odebrat vzorky od všech potomků a jejich rodičů (Griffith *et al.* 2002). Proto je i v dnešní době počet druhů prozkoumaný touto metodou velmi omezený (Griffith *et al.* 2002).

Další metodou je využití nepřímého odhadu, který ale nemusí být tak přesný. Jde o měření relativní velikosti varlat nebo v poslední době i stanovení variability v délce spermií. Je otázkou, zda vyšší promiskuitu může také naznačovat velikost tzv. kloakálního výčnělku u samců pěvců (viz níže). Nejčastěji je pro nepřímý odhad promiskuity využívána relativní velikost varlat. Varlata jsou větší u druhů s vysokou kompeticí spermií, a tedy s vysokou mírou promiskuity, kvůli potřebě většího množství spermií (Parker 1990) nebo alternativně k produkci delších spermií (Pitnick *et al.* 1996). Ovšem podle Lüpold *et al.* (2009a) intenzivnější kompetice spermií ovlivňuje spíše semennou tkáň varlat než celkovou velikost varlat. Pokud se tato tkáň zvětšuje na úkor ostatních tkání, jak je tomu zdá se například u některých hlodavců (Russell 1990), velikost varlat se s kompeticí spermií nemusí měnit. V dnešní době jsou údaje o velikosti varlat dostupné pro poměrně velký počet druhů. Avšak Calhim a Birkhead (2007) ve své práci důrazně varují, že v případě pěvců, využití muzejních vzorků přináší značné riziko podhodnocení výsledné míry promiskuity. Velikost varlat je totiž u ptáků obecně značně sezonně proměnlivá. Maximální velikosti dosahují během rozmnožovací sezóny, poté se redukuje (Birkhead a Immler 2007), což vytváří problémy u druhů, kteří nemají synchronizovanou rozmnožovací sezónu, a není vždy jisté, zda byla pro sbírkové účely sbírána právě aktivní varlata. Velikost varlat se také může lišit u mladých, první rok se rozmnožujících, a starších jedinců (např. slavík modráček, *Luscinia svecica*; Laskemoen *et al.* 2008). Zároveň ptačí varlata také nejsou obě stejně velká, u většiny druhů je levé varle větší a prodlouženější než to pravé (Calhim a Montgomerie 2015). Při využití jednoho varlete lze tedy pro stejného jedince získat dva rozdílné údaje ve stejnou dobu, proto je lepší využívat kombinovanou hmotnost obou varlat (combined testes mass - CTM) (Calhim a Birkhead 2007).

Další nepřímé metody odhadnutí míry promiskuity, využívané v této práci, jsou podrobněji popsány dále.

1.2.1. Postkopulační pohlavní výběr

Existence pohlavního výběru je známa poměrně dlouhou dobu. Již v 19. století Darwin odhalil kompetici samců o rozmnožování s vybranou samicí (prekopulační pohlavní výběr) a s ní související evoluci znaků podporujících přenos genů daného jedince na úkor ostatních. Tyto znaky bývají většinou spojeny s fenotypovou atraktivitou pro samice a ne vždy musí být výhodné pro přežití samotného samce (tj. pohlavní výběr je v rozporu s přirozeným výběrem). Myšlenka, že by mohl existovat i postkopulační pohlavní výběr, v té době nepřipadala v úvahu, protože samice byly považovány za monogamní (Birkhead a Pizzari 2002). Toto paradigma bylo překonáno až v druhé polovině 20. století.

Postkopulační pohlavní výběr probíhá až po inseminaci, skrytě uvnitř samice. Spíše než na fenotyp samce je zaměřen na jeho genotyp a schopnost účinně oplodnit samici (Birkhead a Pizzari 2002). Jeho existence je podmíněna promiskuitou, tedy tím, že samice kopulovala s dvěma a více samci a je tedy více kandidátů na oplodnění vajíčka.

V rámci postkopulačního pohlavního výběru můžeme sledovat dvě části - kompetici spermií a samičí kryptickou volbu, které je poměrně obtížné od sebe v praxi odlišit (Birkhead 1998). Obě tyto složky mají značnou evoluční sílu a jejich působení ovlivňuje utváření samčího i samičího rozmnožovacího ústrojí, ale například i jejich chování (Calhim *et al.* 2007). V rámci této práce nás zajímá vliv postkopulačního pohlavního výběru na spermie, a to především na jejich velikost, ačkoliv ovlivňuje i další jejich vlastnosti, jako je například rychlost plavání a životaschopnost (Snook 2005).

1.2.1.1. Samičí kryptická volba

Samičí kryptická volba byla dlouhou dobu přehlížena a vědci se jí začali zabývat později než kompeticí spermií (Birkhead 2010). Jednak za to mohly předsudky a nedůvěra v to, že by samice mohly ovlivňovat oplodnění, jednak to, že tento proces lze špatně zkoumat a je zřejmě méně významný než kompetice spermií. Na oblibě mu nepřidalo ani to, že je velmi obtížné jeho vliv rozeznat od kompetice spermií (Birkhead 1998). Základy výzkumu samičí kryptické volby položili dva vědci, Thornhill (1983), který prováděl výzkumy na octomilkách (*Drosophila*) a zjistil, že samice kopulují s více samci, aby mohly vybírat mezi více spermii, a Eberhard, který samičí volbě věnoval celou knihu a odhalil mnoho způsobů, jak mohou samice ovlivňovat výsledné oplodnění (Eberhard 1996).

Samičí volba probíhá již před kopulací, v rámci prekopulační pohlavní selekce, kdy samice vybírá, s kým bude kopulovat. Ne vždy je ale tato volba jen na ní, v některých případech bývají samice ke kopulacím donuceny. Jindy samice může být při výběru omezena na samčí fenotyp, bez ohledu na jeho genetické vlastnosti (Birkhead a Pizzari 2002). V takových případech může být samičí kryptická volba další možností samice jak vybrat vhodného otce pro své potomky a vytěžit tak z rozmnožování maximum.

Jak již naznačil Thornhill (1983), samičí kryptická volba je mezipohlavní selekční proces, kdy samice může vybírat, spermie kterého samce ji oplodní. Zdá se, že samice mohou pomocí kontrolních procesů nebo struktur rozlišovat mezi spermii a vybírat samce vlastního druhu s určitým znakem spermii (Eberhard 1994). Tento znak zřejmě přispívá k lepší schopnosti spermii oplodnit vajíčko. Při inseminaci spermii cizího druhu je míra oplodnění výrazně snížena. Většina spermii je vyloučena již ve vagíně a naprosté minimum spermii je uskladněno (Steele a Wishart 1992). Samičí výběr může být zprostředkován různými způsoby, od vyloučení spermii nechtěného samce z těla, přes urychlení ovulace nebo dozrání vajíček po kopulaci s vhodným partnerem až po potrat zygoty (Eberhard 1996). Pokud jsou samice schopné rozlišovat mezi spermii vlastního a cizího druhu, je možné, že jsou schopné vybírat i mezi spermii v rámci druhu (Birkhead 2000). V tomto případě by jim kompetice spermii poskytla možnost porovnat a vybrat si, které spermie budou lepší k oplodnění (Birkhead a Pizzari 2002, Eberhard 1996). Ne vždy však vítěz kompetice spermii musí být i vítěz samičí kryptické volby. Ta by pak zkreslovala výsledek kompetice spermii a mohla být klasickým příkladem konfliktu pohlaví (Briskie a Montgomerie 1993).

Důkazy, že u daného druhu skutečně působí samičí kryptická volba, je obtížné získat. Jelikož se tento proces odehrává uvnitř samičího těla, důkazy o jeho existenci pocházejí z nepřímých měření. Vzhledem ke konfliktu mezi samicemi (prostřednictvím jejich reprodukčního ústrojí) a samci (skrze morfologii spermii) o rozhodování o oplodnění, lze předpokládat koevoluci mezi samičím traktem a spermii (Briskie a Montgomerie 1993, Miller a Pitnick 2002).

1.2.1.1.1. Samičí orgány na skladování spermii

Samice ptáků, podobně jako některých dalších zvířecích taxonů (např. hmyz; Baer *et al.* 2003, Thornhill 1983), před oplodněním skladují inseminované spermie ve speciálních orgánech. Tyto orgány, anglicky nazývané sperm storage tubules (SSTs), mají tvar kanálků s pouze jedním otvorem, kterým spermie mohou vstupovat nebo odcházet. Skladování spermii je

v této skupině důležité, protože samičí ovulace je velmi krátká a je tedy třeba zajistit, aby v tuto dobu byly spermie přítomny k oplodnění. Doba, po kterou jsou spermie skladovány, se liší v závislosti na velikosti snůšky. U pěvců obecně platí, že počet kopulací se výrazně sníží po nakladení prvního vejce (Crowe *et al.* 2009). Spermie tedy musí v kanálcích přežít i několik dní, aby bylo možné oplodnit i poslední vejce snůšky. Počet uskladněných spermií je ale velmi nízký oproti celkovému inseminovanému množství. U zebřičky pestré, *Taeniopygia guttata*, bylo zjištěno jen asi 0,1 % uskladněných spermií (Birkhead *et al.* 1993). Počet kanálků i jejich velikost se mezi ptačími druhy liší (Briskie a Montgomerie 1993), přesto, jak se zdá, ani zdaleka nemají dostatečnou kapacitu na většinu spermií a vytvářejí tak další místo ke kompetici mezi spermii. Kromě vlastností, které by spermii mohly pomoci v úspěšném oplodnění, například vyšší rychlost, zde mohou být výhodné i zcela jiné vlastnosti, jako třeba schopnost vytlačit již uskladněné spermie konkurenčního samce. Tato schopnost může být jednou z hnacích sil koevoluce délky samičích skladovacích kanálků s délkou spermií. Délka těchto kanálků je u pěvců v průměru dvojnásobná oproti délce spermií (Briskie a Montgomerie 1993). V takovém případě by se spermie v kanálcích mohly vrstvit, což by způsobovalo, že poslední uskladněné spermie budou zvýhodněné při cestě za oplodněním, protože jsou blíže u vstupu. Samice si tedy mohla vybrat samce, se kterým bude kopulovat jako s posledním před ovulací, a ten by díky této přednosti „posledního samce“ byl úspěšný v oplodnění (Birkhead a Møller 1992). Samci na to mohou reagovat prodloužením spermií tak, aby se spermie nemohly vrstvit a aby byly schopné cizí spermie vytlačit. V takovém případě by vajíčko oplodnil první kopulující samec. Tato koevoluce by pak mohla přerůst až v „závody ve zbrojení“ - k velké variabilitě v délce spermií mezi ptačími druhy a k prodloužení spermií u druhů s vysokou promiskuitou (Briskie a Montgomerie 1992). Novější studie ale přednost posledního samce vylučují (Bennison *et al.* 2015, Hemmings *et al.* 2017). A ačkoliv považují délku spermií za hlavní znak určující výsledný úspěch v oplodnění jednotlivých samců, prokázaly, že roli hrají samičí skladovací kanálky (SST), které nenáhodně přijímaly inseminované spermie. Vzhledem k tomu, že je délka SST druhově závislá (Briskie a Montgomerie 1993), může být výsledkem koevoluce s délkou spermií. Vzhledem k nutnosti spermií „vejít se“ do kanálků daného druhu či konkrétní samice, vnitrodruhová selekce na délku spermií může být stabilizující, čili proti extrémním velikostem spermií (především proti přílišné délce). To by mohlo pomoci vysvětlit vztah mezi EPP (síla selekce) a variabilitou v délce spermií mezi samci daného druhu (Lifjeld *et al.* 2010, viz také níže). Další výzkum je ale nutný.

1.2.1.2. Kompetice spermií

Výzkum postkopulačního pohlavního výběru se zpočátku zaměřil převážně na kompetici spermií (Snook 2005), která se zdá být jeho významnější složkou. Vznikla zřejmě už během evoluce pohlaví samotného a přetrvávala dodnes, kdy se objevuje u téměř všech skupin zvířecí říše, ať už mají vnitřní nebo vnější oplodnění (Birkhead a Møller 1998). Dokonce se vyskytuje i u rostlin ve formě pylové kompetice. Předpokladem pro vznik kompetice spermií je to, že samice kopuluje s více než dvěma samci a jejich spermie jsou nuceny soupeřit o to, kdo oplodní vajíčko (Parker 1970). Její míra tedy odpovídá míře promiskuity.

Souboj o oplodnění s sebou nese silnou selekci na morfologii samčích reprodukčních orgánů, která má zajistit co nejvyšší šanci na vítězství, protože výhra v kompetici spermií zvýší reprodukční úspěch díky zplodění většího množství potomků. Zvláště silně se pak tato selekce může projevit na morfologii spermií jakožto zprostředkovateli oplodnění. Ideální spermie by měly mít vlastnosti podporující oplodnění. Ovšem jaké vlastnosti to u daného druhu přesně jsou, je otázkou, protože jeden ideální typ spermií pro všechny druhy neexistuje.

Vysoká kompetice spermií také způsobuje nejistotu, zda mláďata ve vlastním hnízdě jsou opravdu potomky daného vnitropárového samce. Ztracené náklady na výchovu cizích potomků jsou vysoké, proto samci také vyvinuli strategie a adaptace k minimalizování kompetice spermií. U některých druhů ptáků je možné vidět hlídání partnerů, případně časté vnitropárové kopulace, které mají zvětšit podíl spermií vnitropárového samce oproti mimopárovému a zvýšit pravděpodobnost, že bude posledním kopulujícím samcem před ovulací. Další příklady byly objeveny u octomilek, u kterých ejakulát může kromě spermií obsahovat také složky, které odstraní spermie již přítomné v samičím reprodukčním traktu nebo například odradí samice od dalších kopulací (Chapman 2001).

1.2.2. Kovariáty promiskuity

V následující části jsou podrobněji popsány znaky měnící se s promiskuitou, které mohou sloužit k určení její míry a kterými se tato práce zabývá. Obvykle bývají vztahovány k míře kompetice spermií, která jejich změny vysvětluje.

1.2.2.1. Délka spermií

Rozsah délky spermií u ptáků je obrovský, pohybuje se přibližně od 40 do 300 μm (Lifjeld *et al.* 2010). Tyto rozdíly mají více důvodů. Jedním z nich je inkompatibilita spermií s rozmnožovacím traktem samice jiného druhu, tedy reprodukční izolační mechanismus, který brání hybridizaci. Ostatní důvody jsou obvykle spojovány s kompeticí spermií, kdy druhy s vyšší kompeticí mají spermie delší. Delší spermie mohou být upřednostňovány přímo samicemi, pokud je jejich velikost spojená s nutričním přínosem pro zygotu nebo mají geny pro životaschopnost nebo atraktivitu, které zdědí jejich potomci. Další možností je, že delší spermie mají samy o sobě vyšší kvalitu a jsou konkurenceschopnější. To může být z důvodu rychlejšího plavání – prodloužení ocásku zvětší mechanický pohon spermie, větších energetických zásob – díky relativně delšímu krčku obsahujícímu mitochondrii nebo schopnosti vyhnout se samičí kryptické volbě (Birkhead 2000, Briskie a Montgomerie 1993, Lüpold *et al.* 2009b).

Pokud by ovšem pokračovala tato směrová selekce na délku spermií, většina druhů by měla extrémně dlouhé spermie a neexistovala by taková variabilita v jejich délce. Proto se zdá, že zde působí trade-off mezi velikostí a množstvím spermií (Bjork a Pitnick 2006, Immler *et al.* 2011), které je u každého druhu specifické. Velké množství krátkých spermií může být také kompetičně výhodné, obzvláště u druhů s větším tělem, jako jsou pěvci, kde je velká šance, že spermie budou příliš zředěné a ztratí se dříve, než dorazí k vajíčku (Immler *et al.* 2011).

1.2.2.2. Variabilita v délce spermií

Délka spermií se může lišit i v rámci druhu. Zde ovšem nepůsobí selekce směrová, ale spíše stabilizační (Birkhead *et al.* 2005). Nejkonkurenceschopnější spermie mají délku co nejbližší druhově specifickému optimu, které je určeno délkou samičích skladovacích kanálků (SST, viz také výše). V rámci druhu by tedy kompetice spermií mohla upřednostňovat samce s průměrnou délkou spermií (ale viz Bennison *et al.* 2015, kteří u zebřičky pestré, *Taeniopygia guttata*, dokumentují výhodu delších spermií). Uvolněná kompetice spermií způsobuje snížení síly této stabilizující selekce, a to nejen co se týká délky. Takové druhy nemusí investovat tolik zdrojů do produkce přesných či velkých spermií a mohou je využít jinak (Tazzyman *et al.* 2009). Tato uvolněná selekce se nemusí projevit jen jako zvýšení variability v délce. U některých druhů byla zjištěna také variabilita v poměru jednotlivých

částí (zebříčka pestrá, *Taeniopygia guttata*; Birkhead *et al.* 2005) a v extrémním případě, u druhu s nulovou promiskuitou, i spermie s neotenním designem (hýl obecný, *Pyrrhula pyrrhula*; Birkhead *et al.* 2006), které mají sice nízkou konkurenceschopnost, ale stále dokáží oplodnit vajíčko.

Některé studie již využívají mezisamčí variabilitu v délce spermií jako ukazatel míry kompetice spermií (Albrecht *et al.* 2013, Laskemoen *et al.* 2013, Rowe *et al.* 201; Janoušek *et al.* 2019; Albrecht *et al.* 2019). Podle Lifjeld *et al.* (2010) to je velmi dobrý ukazatel nezávislý na fylogenezi, který udává dlouhodobější míru promiskuity a je málo náchylný k časovým nebo prostorovým výkyvům. Takové výzkumy jsou navíc jednoduše proveditelné, a to bez fyzické újmy samců a bez nutnosti na provedení nákladných paternitních studií. Navíc je tato metoda je zřejmě, minimálně u pěvců, lepší alternativou měření míry kompetice spermií než zjišťování relativní velikosti varlat (Lifjeld *et al.* 2010).

V rámci ejakulátu jednoho samce také existují značné rozdíly v délce spermií. Kompetice spermií, jak se zdá, může působit na této úrovni podobně, jako mezi samci, čili vyšší kompetice spermií vede k nižší variabilitě v délce spermií v rámci ejakulátu (Lifjeld *et al.* 2010, Albrecht *et al.* 2013). Ovšem rozdíly v morfologii spermií v rámci ejakulátu mohou být také zprostředkovány střetem zájmů diploidního a haploidního genomu, kdy první představuje samce a druhý spermii (Parker 1993, Parker a Begon 1993). Optimální velikost každého z nich se může lišit, ale za vysoké úrovně kompetice spermií si budou obě tyto optimální velikosti podobné, což by způsobovalo snížené rozdíly v morfologii spermií.

Zdá se, že stejně jako mezisamčí variabilita spermií, i rozdíly v délce spermií v rámci jednoho samce by mohly ukazovat míru kompetice spermií. Tyto rozdíly ovšem mohou být více náchylné k ovlivnění různými ekologickými faktory spojenými s vývojem a růstem varlat a tyto nežádoucí vlivy mohou být u některých druhů výraznější (Lifjeld *et al.* 2010). Variabilitě na této úrovni byla sice zatím věnována menší pozornost, přesto několik studií již dříve podpořilo tuto teorii zjištěním negativního vztahu mezi vnitrosamčí variabilitou a mírou kompetice spermií (Immler *et al.* 2008), i když u jedné byl tento vztah jen nevýznamný (Kleven *et al.* 2008).

Variabilita spermií ale nemusí být ovlivněna jen postkopulační pohlavní selekcí. U malých populací může mít na spermie vliv inbreeding, který může narušit správnou spermatogenezi a zvýšit tím počet abnormálních spermií, které mohou mít narušenou funkci (Gage *et al.* 2006). Informací o inbreedingu a jeho vlivu na morfologii spermií je však příliš málo (Immler *et al.* 2008).

1.2.2.3. Kloakální výčnělek

Kloakální výčnělek je zvětšená oblast kloaky u samců pěvců během rozmnožovací sezóny. V tomto období je to znak, podle kterého lze dobře rozeznat samce od samice i u druhů, u kterých je to jinak na první pohled komplikované. Velikost výčnělku je také rozdílná u mladých, prvním rokem se rozmnožujících, a u starších samců. Starší samci mají tento výčnělek větší, což může ovlivňovat vyšší podíl jimi zplozených mimopárových potomků ve srovnání s mladými jedinci (Laskemoen *et al.* 2008). Výčnělek vzniká zvětšením dvou semenných váčků, spojených kanálky s varlaty. V těchto váčcích se skladují spermie připravené k ejakulaci (Wolfson 1952). Již před více než 50 lety bylo zjištěno, že v kloakálním výčnělku, přesněji v páru semenných váčků, jsou skladovány a dozrávají spermie při nižší teplotě, než jaká je v tělesné dutině (Wolfson 1954). A předpokládají se i další funkce. Například u samců sýkořice vousaté, *Panurus biarmicus*, slouží jako kopulační orgán usnadňující přenos spermií (Sax a Hoi 1998).

Kloakální výčnělek nebývá používán k přesnému odhadu míry kompetice spermií, ale některé studie ho využívají k přibližnému určení (Lifjeld *et al.* 2013, Rowe a Pruett-Jones 2006), zda má druh kompetici spermií vysokou či nízkou. Jeho velikost, jak se zdá, také koreluje s mírou promiskuity, nicméně konkrétní analýzy zatím nebyly provedeny.

Velikost kloakálního výčnělku se mezi druhy liší, a to tak, že lze předpokládat jeho větší velikost u druhů s vyšší kompeticí spermií (Birkhead *et al.* 1993). K tomu se vztahují dvě možná vysvětlení. Zaprvé: několik prací objevilo spojení mezi množstvím spermií a velikostí kloakálního výčnělku, a to jak v rámci jednoho druhu (Tuttle a Pruett-Jones 2004, Peer *et al.* 2000), tak mezi různými druhy pěvců (Rowe a Pruett-Jones 2006, Birkhead *et al.* 1993). Velikost výčnělku tedy zřejmě může souviset s potřebou mít připravený větší počet spermií k častějším kopulacím nebo větším ejakulátům u druhů s vysokou mírou promiskuity. Větší množství spermií vyžaduje více místa a kloakální výčnělek je proto větší (Tuttle *et al.* 1996). Zadruhé: kompetice spermií bývá často spojována s dlouhými spermiemi. Uskladnění takovýchto spermií vyžaduje také více místa, a tedy větší kloakální výčnělek. Birkhead (1993) našel významné pozitivní spojení mezi délkou spermií a velikostí výčnělku, ale vzhledem k tomu, že velikost výčnělku zároveň pozitivně korelovala s počtem spermií, je nepravděpodobné, že by samotná velikost spermií velikost výčnělku ovlivňovala.

1.2.3. Spojení promiskuity se znaky životní strategie a ekologie

Životní strategie je způsob života, trade-off mezi investicemi do současné reprodukce a přežití, které jsou u každého druhu unikátní. Skládají se z mnoha různých parametrů jako je například velikost snůšky, míra přežití nebo rodičovská péče. Jednotlivé strategie lze seřadit podle takzvaného „slow-fast“ kontinua, kdy na jednom konci jsou druhy s pomalou životní strategií – s dlouhým životem a nízkými investicemi do jedné snůšky, typické pro tropické druhy, a rychlé strategie – s kratším dožitím a velkým reprodukčním úsilím, obvyklé u temperátních druhů (Wiersma *et al.* 2007, Ricklefs 2000). Tyto strategie se také zřejmě liší s nadmořskou výškou, ovšem jakým způsobem – to zůstává nezodpovězenou otázkou. Vzhledem k tomu, že podmínky ve vyšších polohách jsou podobnější těm ve vyšších zeměpisných šířkách (je zde chladnější klima, vyšší sezonalita potravy), dalo by se očekávat, že zde žijící druhy budou vykazovat životní strategie podobné strategiím ve vysokých latitudách. Naproti tomu ale bylo zjištěno, že v těchto oblastech mají ptáci sníženou reprodukci a vyšší přežití ve srovnání s nízkými žijícími druhy a v tropických oblastech tedy mohou v těchto dvou parametrech vykazovat ještě pomalejší životní strategii než tropičtí nížinní ptáci (Bears *et al.* 2009, Boyle *et al.* 2016). Nedávné výzkumy však naznačují, že spíše než pomalou životní strategii budou mít vysoko altitudinální druhy unikátní typ životní strategie, který má určité charakteristiky pomalé strategie (malá snůšky, nízká mortalita dospělců, prodloužený vývoj) a některé rychlé (vyšší bazální metabolismus, nižší počet snůšek) (Hille a Cooper 2015).

Mnoho studií mimopárově rozmnožování spojuje se znaky životní strategie nebo ekologie, které mohou jeho vyhledávání usnadnit nebo naopak omezit. Široce rozšířenou hypotézou je Hypotéza životní strategie, která míru promiskuity spojuje přímo s rychlostí života (Mauck *et al.* 1999, Arnold a Owens 2002). Předpokládá, že druhy s rychlejším životem a kratším dožitím budou tolerovat vyšší míru promiskuity. Je ovšem pravděpodobné, že takto nepůsobí jen jeden znak a zároveň že různé znaky mohou působit na některých úrovních organizace, zatímco na jiných nemají vliv. Rozdíly mezi hlavními ptačími liniemi by mohly být vysvětleny základními znaky životních strategií (např. mortalita jedinců, rodičovská péče), zatímco rozdíly mezi blízkými příbuznými druhy současnými ekologickými faktory (např. rozmnožovací hustota) (Arnold a Owens 2002).

Jelikož zásadní měřítko životních strategií, rychlost života, vykazuje latitudinální a případně i altitudinální gradient, lze očekávat, že by tyto trendy mohla sledovat i míra promiskuity. Latitudinálním gradientem v míře promiskuity se sice již zabývalo několik

studií, je však vnímán různě. Jedna část prací tvrdí, že míra promiskuity je vyšší v temperátních oblastech a klesá směrem k rovníku (Stutchbury a Morton 1995, 2001, Spottiswoode a Møller 2004). Tento trend byl také ukázán u čeledi strnadovití (Emberizidae) i na menší geografické škále v rámci temperátní oblasti (Bonier *et al.* 2014). Další studie však k takovým výsledkům nedospěly. Pitcher *et al.* (2005) sice zjistili větší relativní velikost varlat u eurasijských taxonů, ovšem latitudinální vzor nepotvrdili a Albrecht *et al.* (2013) ukázali podobný rozsah míry kompetice spermií u tropických i temperátních druhů. Ve výzkumu tohoto trendu přetrvává problém s použitým vzorkem. Míra EPP je známa jen u několika tropických druhů, většina odhadů míry promiskuity proto u těchto druhů pochází z nepřímého měření relativní velikosti varlat, jehož kvalita nemusí být vysoká, obzvláště pokud byly použity muzejní vzorky varlat (Calhim a Birkhead 2007).

Co se týče altitudy v míře promiskuity, většina předpokladů je jen teoretická. Badayev (1997) zjistil vyšší pohlavní dimorfismus, hlavně v opeření, u níže se rozmnožujících druhů pěvců podčeledi Cardulinae z celého světa. Tento výraznější dimorfismus by mohl být způsoben silnější pohlavní selekcí v nižších polohách. Ovšem je otázkou, jestli tomu tak skutečně je a jestli zde nemá větší vliv přírodní výběr, který potlačuje jasné zbarvení samic (Macedo *et al.* 2008). S nadmořskou výškou by se měly zvyšovat náklady na reprodukci, konkrétně na rodičovskou péči, což by mohlo snižovat výhody provozování mimopárového rozmnožování (Badyaev a Ghalambor 2001). Tato myšlenka byla potvrzena u strnadovitých (Emberizidae) v temperátní oblasti, kdy se míra EPP snižovala s rostoucí výškou (Bonier *et al.* 2014). Ovšem v rámci různých zeměpisných šířek se vztah lišil. V severnějších oblastech zřejmě potřeba otcovské péče převažovala nad výhodami promiskuity v synchronizované se rozmnožujících populacích, a proto zde byl vztah výrazný. V jižnějších oblastech otcovská péče není tolik nezbytná, proto je vztah slabší. Další výzkum však neobjevil žádný vztah míry EPP a nadmořské výšky v rámci dvou populací horského temperátního pěvce salašníka horského, *Sialia currucoides* (Balenger *et al.* 2009). Altitudinální trend je ještě méně prozkoumaný než latitudinální, a to jak v míře promiskuity, tak i ve znacích životní strategie. Přínosné informace by poskytl výzkum altitudy v rámci tropické oblasti, kdy je rozdíl v podmínkách mezi nízkými a vysokými polohami obrovský, ovšem takový zatím chybí.

1.2.3.1. Populační hustota

Také vysoká populační hustota zvyšuje příležitosti k mimopárovému rozmnožování. Pro hojně druhy jsou charakteristické zvýšené interakce mezi jedinci a nižší náklady na hledání mimopárového partnera. Mnoho mimopárových kopulací probíhá se sousedními samci, kteří v těchto případech sídlí velmi blízko. Vysoká rozmnožovací hustota zároveň může narušit schopnost samců účinně hlídat své partnerky. Obzvláště vysoká míra promiskuity by se mohla očekávat u koloniálně hnízdících druhů (Møller a Birkhead 1993). Ovšem v tomto výzkumu byla použita frekvence kopulací, které nemusí odpovídat skutečnému mimopárovému oplodnění (Westneat a Sherman 1997). Byly provedeny i další studie, které se liší svými výsledky, což může být z části způsobeno rozdílným způsobem provedení výzkumu (Griffith *et al.* 2002). Vztah mezi hustotou a mírou promiskuity jakožto všeobecný vzor příliš podpory nezískal (Westneat a Sherman 1997, Wink a Dyrce 1999), zdá se však, že by mohl působit spíše na nižší taxonomické úrovni – v rámci druhu (Møller a Ninni 1998, Stewart *et al.* 2010, Mayer a Pasinelli 2013, Macedo *et al.* 2008).

Všeobecně se předpokládá, že v tropických nížinách je nízká druhová hustota a vysoký počet druhů. Terborgh *et al.* (1990) zjistili, že ptáci tropického nížinného lesa v Amazonii mají o celý řád nižší hustotu populací než jejich protějšky z temperátních lesů. Ovšem hustota populací se může lišit i mezi jednotlivými tropickými nížinami (Robinson *et al.* 2000). S rostoucí nadmořskou výškou se hustota také mění. Zdá se, že horské druhy mají vyšší lokální populační hustotu, čímž kompenzují malé areály v těchto oblastech a snižují tak riziko extinkce (Ferenc *et al.* 2016). Tato hypotéza by tedy teoreticky mohla vysvětlovat rozlišnou míru promiskuity v rámci latitudy i altitudy.

1.2.3.2. Rozmnožovací synchronizace

Ohledně rozmnožovací synchronizace byly navrženy dvě protichůdné hypotézy. První říká, že vyšší synchronizace rozmnožování snižuje promiskuitu. Samci během rozmnožování hlídají svou partnerku a to je omezuje ve vyhledávání mimopárového rozmnožování kvůli vysokému riziku, že v té době budou sami podvedeni (Birkhead a Biggins 1987). Druhá, více uznávaná, naznačuje, že rozmnožovací synchronizace podporuje mimopárové rozmnožování, protože samice mají lepší příležitost k srovnání potenciálních mimopárových partnerů a samcům se tak sníží náklady na vyhledávání mimopárového oplodnění díky vyšší hustotě samic plodných

ve stejnou dobu (Stutchbury a Morton 1995). Logiku této hypotézy ale Weatherhead a Yezerinac (1998) zpochybňují, tvrdí, že při vysoké synchronizaci samice nemají možnost vybrat kvalitního samce pro mimopárové rozmnožování, protože ti jsou již spárováni a věnují se vlastnímu hnízdu (Weatherhead 1997, Weatherhead a Yezerinac 1998). Ohlasy na tuto hypotézu jsou smíšené, existují studie, které ji podporují (Stutchbury *et al.* 2007, Bonier *et al.* 2014), stejně jako ty, které jsou proti (Tarwater *et al.* 2013).

Tato hypotéza by mohla podpořit latitudinální trend v míře promiskuity, jelikož druhy v temperátních oblastech se rozmnožují poměrně synchronně vzhledem k tomu, že je zde krátké období podmínek vhodných k rozmnožování a u tropických druhů se tato synchronizace považuje za nižší. V některých dalších studiích byl latitudinální trend v míře promiskuity skutečně spojen s rozmnožovací synchronizací (Stutchbury a Morton 1995, 2001). Ovšem ne všechny tropické druhy mají dlouhou rozmnožovací sezónu a u některých druhů může být podobně dlouhá jako u temperátních druhů (Macedo *et al.* 2008). Délka rozmnožovací sezóny je pravděpodobně odlišná také ve vyšších altitudách, kde je výraznější sezonalita prostředí než v nižších polohách.

1.2.3.3. Migrace

S rozmnožovací sezónou souvisí také předpokládaný vztah mezi migrační vzdáleností a mírou promiskuity. Migrující druhy mají krátké a vysoce synchronizované rozmnožovací období, které začíná po přiletu na hnízdiště. Synchronizace rozmnožování tedy nemusí být příčinou vysoké míry promiskuity, ale jen důsledkem migrace, která tuto promiskuitu ovlivňuje (Spottiswoode a Møller 2004). A existují i další důvody, proč migrace podporuje mimopárové rozmnožování. Přilet jedinců na hnízdiště je kondičně závislý a umožňuje tedy samici srovnat kvalitu samců. Na druhé straně, utváření teritorií může být velmi rychlé a není jistota, že nejkvalitnější samci zaberou ta nejlepší území. Pokud si pak samice vybírají sociálního partnera podle kvality teritoria, může dojít ke spárování kvalitní samice s nekvalitním samcem (Weatherhead a Yezerinac 1998, Stutchbury a Morton 2001). Tuto úspěchanou volbu pak samice může kompenzovat mimopárovým rozmnožováním. Bylo také dokázáno, že migrace zvyšuje genetickou diverzitu jedinců v populaci, takže někteří vykazují rozlišné znaky, např. ve zbarvení (Fitzpatrick 1994). Podle těchto znaků samice mohou vybírat vhodného mimopárového partnera k oplodnění svých potomků, obzvláště pokud jsou tyto znaky dědičné (Petrie *et al.* 1998).

Migrace je jedním z možných faktorů potenciálně způsobujících latitudinální trend, protože mnoho druhů z vyšších latitud migruje během nepříznivého období do nižších zeměpisných šířek (Wiersma *et al.* 2007), zatímco většina tropických druhů je stálých nebo migrují na kratší vzdálenosti. Tento předpoklad Spottiswoode a Møller (2004) ve své studii potvrdili. Pitcher *et al.* (2005) zase zjistili, že migrující druhy mají ve srovnání s nemigrujícími větší varlata, což je znak spojovaný s mírou promiskuity, ovšem tento vztah byl zřejmě jen nepřímý a ovlivněný dalšími faktory. A podobně jako u všech hypotéz, i u této se najdou studie, které ji nepodpořily (Albrecht *et al.* 2013).

1.2.3.4. Rodičovská péče

Rodičovská péče je u většiny druhů zásadní pro úspěšné vychování potomků. Liší se nejen rozsah poskytované péče, ale i její rozdělení mezi rodiči. Zároveň platí, že čím je nákladnější, tím nevýhodnější je s ní plýtvat na potomky, kteří nejsou vlastní (Arnquist a Kirkpatrick 2005). Z toho vyplývá, že druhy s vysokou potřebou rodičovské péče (a hlavně potřebou i otcovské péče) by měly mít nižší mimopárovou paternitu (Albrecht *et al.* 2006), jinak hrozí, že samec sníží svou péči nebo opustí hnízdo. Míra promiskuity, kterou je samec ochoten snést, se také může mezi druhy lišit a ovlivnit ji může například pravděpodobnost přežití do další rozmnožovací sezóny (Mauck *et al.* 1999). Je to ovšem podmíněno schopností samců odhadnout svou paternitu v hnízdě. Samice žijící v páru pak umožňuje samcům přijatelnou míru otcovství, zatímco ve skupině s helpery, kde na péči dominantního samce není tolik závislá, si může dovolit vyšší promiskuitu (modropláštník nádherný, *Malurus cyaneus*, Mulder *et al.* 1994). Tato hypotéza byla zkoumána i s ohledem na různé složky samčí péče, jako je stavba hnízda, inkubace nebo krmení potomků (Matysioková a Remeš 2013, Møller a Cuervo 2000). Další možností, jak by mohla nákladná péče ovlivnit míru promiskuity, je skrze investice do různých aktivit samců, jelikož rodičovská péče a vyhledávání mimopárových kopulací probíhá z velké části ve stejnou dobu. Intenzivní péče o potomky může tudíž zkrátit čas, který samec stráví vyhledáváním mimopárových kopulací (Magrath a Komdeur 2003). Některé studie naznačují, že význam této hypotézy by mohl být vyšší mezi hlavními ptačími liniemi vzhledem k tomu, že rodičovská péče je jedním ze základních znaků životní strategie a že na nižších úrovních převažují aspekty ovlivňující příležitosti k mimopárovému rozmnožování v současné době (Griffith *et al.* 2002, Arnold a Owens 2002).

Otcovská péče může být obzvláště důležitá u tropických druhů, které díky zvýšeným investicím do jednotlivých potomků mají delší vývoj a rodičovská péče je prodloužená (Martin *et al.* 2000). Pokud potřeba rodičovské péče s rostoucí zeměpisnou šířkou klesá, pak by mohla vysvětlovat změny v míře promiskuity. Podobně je intenzivnější otcovská péče zřejmě potřebná ve vyšších altitudách. Samice si zde nemohou dovolit na dlouhou dobu opustit hnízdo, protože dojde rychleji k letálnímu prochlazení vajec. Pokud je dostupnost potravy celkově nižší nebo je potrava nerovnoměrně rozmístěna, může být pro samici problém získat dostatek potravy a úspěšně vysedět vejce (Badyaev 1997).

1.2.3.5. Délka života

Délka života je dalším faktorem ovlivňujícím míru mimopárového rozmnožování. Představuje jednu ze základních složek životní strategie a její spojení s promiskuitou je postaveno na teorii životní strategie tvrdící, že kompromisy v reprodukčním úsilí jsou ovlivněny přežíváním dospělců. Neboli krátce žijící druhy by měly tolerovat vyšší míru promiskuity, protože nemají jistotu, že přežijí do dalšího rozmnožovacího pokusu (Mauck *et al.* 1999). Zároveň dlouho žijící druhy často tvoří dlouhodobější páry a v případě nevěry hrozí rozpad tohoto partnerství (Cézilly a Nager 1995). Stejně jako v předchozím spojení promiskuity a rodičovské péče, i zde se předpokládá schopnost samců předvídat paternitu v rámci snůšky. Pro tuto hypotézu existují poměrně silné důkazy (Griffith *et al.* 2002, Arnold a Owens 2002, Wink a Dyrce 1999) a podobně jako hypotéza rodičovské péče se zdá být obzvláště významná mezi základními skupinami ptáků.

Délka života se mezi druhy výrazně liší. Obecně se předpokládá, že tropičtí ptáci mají nižší mortalitu dospělců a žijí déle, ačkoliv mortalita se liší v rámci jednotlivých prostředí (McGregor *et al.* 2007, Blake a Loiselle 2008). Dlouho žijící druhy mohou utvářet dlouhodobé párové svazky spíše než krátce žijící. Existuje tedy zřejmý předpoklad vyšší promiskuity ve vyšších latitudách. Ve vyšších nadmořských výškách by mohla být vyšší mortalita způsobena chladnějším klimatem, vyššími fyziologickými náklady či nižší dostupností potravy kvůli nižší primární produkci. Ovšem zdá se, že vysoko altitudinální druhy mohou mít naopak nižší mortalitu než nížinné druhy, způsobenou přidělením větších investic do vlastního přežití na úkor plodnosti (Boyle *et al.* 2016, Bastianelli *et al.* 2017).

Délka života může společně s velikostí snůšky představovat typ životní strategie (Ricklefs a Wikelski 2002). Pomalé životní strategie s dlouhým životem a malou snůškou

mají nízké investice do aktuální reprodukce, a tudíž by měly mít i malé investice do mimopárového rozmnožování ve srovnání s rychlými životními strategiemi. K odhadu délky života bývá využívána velikost těla (Lidstedt a Calder 1976), ten však nemusí být příliš přesný, jelikož tropičtí ptáci se při stejné velikosti dožívají vyššího věku než temperátní druhy (Peach *et al.* 2001).

V tomto případě je latitudinální trend zřejmý díky posunu životních strategií od rychlých k pomalým, směrem k rovníku. Změny s nadmořskou výškou jsou komplikovanější, a to z důvodu nejistých znalostí o změnách životních strategií s elevací (Boyle *et al.* 2016).

2. CÍLE PRÁCE

- 1) Otestování vztahu mezi znaky spermií (mezisamčí a vnitrosamčí variabilita v délce spermií, délka spermií, relativní délka krčku) a mírou promiskuity odhadnutou prostřednictvím mimopárové paternity (EPP).
- 2) Zjištění vztahu mezi mírou promiskuity a velikosti kloakálního výčnělku
- 3) Stanovení vlivu latitudy a altitudy na znaky spermií pěvců s využitím dat získaných na hoře Mt. Cameroon. Zkoumání vlivu znaků životních strategií a ekologie na odhadovanou míru promiskuity.

3. Metodika

3.1. Lokality

Terénní práce probíhaly na území dvou států, České republiky a Kamerunu, které leží v rozdílných klimatických oblastech – temperátní a tropická zóna. Vzorky z ČR byly sbírány po celém území. V rámci Kamerunu byly dvě zájmové oblasti - nejvyšší kamerunská hora Mt. Cameroon a asi 200km vzdálené pohoří Bamenda highland. Obě tyto horské oblasti mají společný sopečný původ a žije zde mnoho vzájemně blízce příbuzných endemických druhů.

3.2. Odchyt a sběr dat

Odchyty byly prováděny do nárazových sítí, v České republice v letech 2013-2016, na Mt. Cameroon v letech 2011-2015 a v Bamenda highland v letech 2008, 2010 a 2016 ve spolupráci s kolegy z Norska. Spermie se odebíraly během rozmnožovací sezóny, v ČR v rozmezí březen-červenec a v Kamerunu listopad-březen, kromě roku 2014, kdy byly odběry provedeny i během září, v tomto období bylo ovšem získáno jen minimum spermií.

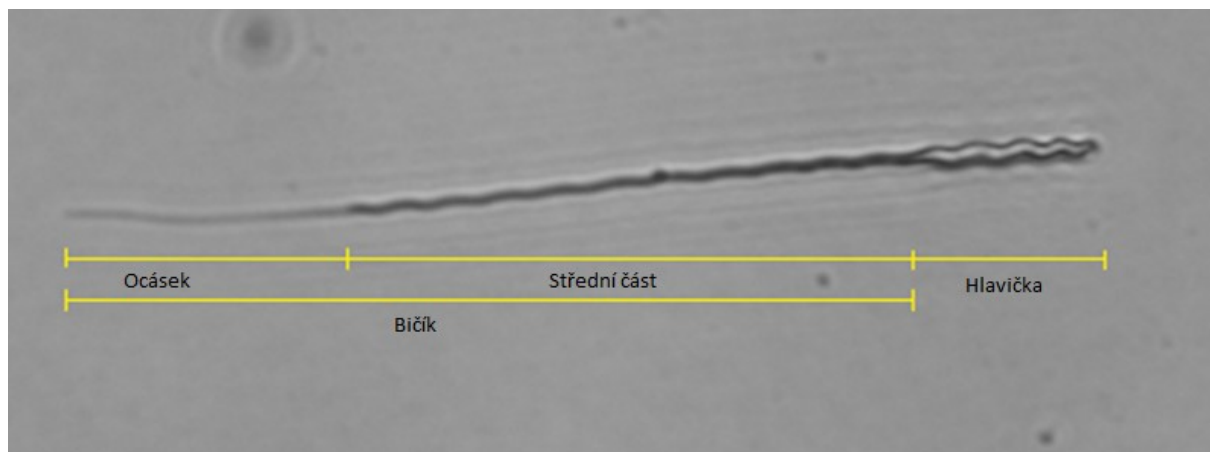
Byly změřeny základní morfologické údaje a následně u samců odebrány spermie jemnou masáží kloakálního výčnělku (Wolfson 1952). Vzorek spermatu se poté smíchal s 5 % roztokem formalinu. V některých letech probíhalo i měření kloakálního výčnělku. Osobně jsem se na odchycích a odběrech vzorků nepodílela. Má práce začínala až zpracováváním získaných dat.

3.3. Analýza dat

3.3.1. Měření spermií

Kapka vzorku spermatu byla rozetřena na sklíčko a nechána několik hodin oschnout. Poté bylo sklíčko opatrně opláchnuto destilovanou vodou, aby byly spermie lépe rozeznatelné. Spermie byly pozorovány pomocí optického světelného mikroskopu (BX51, Olympus, Czech Republic) s kamerou (DP72, OLYMPUS). Bylo vyfotografováno 10 neporušených spermií při zvětšení 400x, delší pak při zvětšení 200x, ty byly dále využity k měření. Samotné měření probíhalo ve volně přístupném programu ImageJ 1.51i. U každé spermie byla změřena délka hlavičky, krčku a ocásku, celková délka pak byla vypočtena jako součet těchto hodnot

vyjádřených v mikrometrech (μm) (jednotlivé části spermie viz Obr. 1). Byly porovnány délky stejných spermií fotografovaných při zvětšení 400x a 200x, kdy druhé byly vynásobeny dvěma, aby bylo možné obě měření srovnat. Jelikož si poté celkové délky spermií při obou zvětšení odpovídaly, rozměry spermií fotografovaných s menším zvětšením byly vynásobeny dvěma a také zahrnuty k dalším analýzám.



Obr. 1: Znáznornění jednotlivých částí spermií

3.3.2. Určení variability v délce spermií

Ke zjištění míry mezisamčí variability v délce spermií byl použit koeficient variance (CV; Sokal a Rohlf 1981). V rámci práce používám dva druhy koeficientu variance, mezisamčí (CV_{bm} – between male), která určuje rozdíly v délce spermií mezi samci v rámci druhu, a vnitrosamčí (CV_{wm} – within male) určující rozdíly v délce spermií v rámci daného samce. Koeficient variance byl vypočítán podle následujícího vzorce:

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

kdy: CV... koeficient variance
SD... směrodatná odchylka
 \bar{x} ... aritmetický průměr

CV_{wm} pak bylo vypočítáno jako aritmetický průměr CV_{wm} všech samců daného druhu. K výpočtu CV_{bm} byl tento vzorec upraven, aby se předešlo podhodnocení výsledků kvůli malé velikosti vzorku:

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \times \left(1 + \frac{1}{4n}\right)$$

kdy: n ... počet samců

CV_{bm} bylo počítáno pro druhy s minimálně 4 samci, což je podle Lifjeld *et al.* (2010) dostatečné.

3.3.3. Velikost kloakálního výčnělku

K určení velikosti kloakálního výčnělku jsem měla k dispozici tři rozměry – šířku, délku a výšku. Jelikož má tvar přibližně elipsoidního válce, bylo možné vypočítat objem výčnělku pomocí vzorce: $\text{výška} \times \pi \times 0,5d_1 \times 0,5d_2$ (Laskemoen *et al.* 2008). V analýzách jsem pak využila jak objem, tak i výšku výčnělku. Velikost kloakálního výčnělku byla využita pouze u samců, od kterých jsem zároveň získala spermie, a tudíž byla jistota, že při odchytu opravdu nacházeli ve fázi rozmnožování.

3.3.4. Příprava datových sad

Celkově jsem měla k dispozici 136 různých druhů z tropické a temperátní oblasti (83 tropických, 53 temperátních), u kterých byl odchycen alespoň jeden samec se spermiemi. V některých případech ($n = 15$) jsem měla stejný tropický druh ze dvou oblastí – Mt. Cameroon a Bamenda highlands. V takovém případě samci obou populací nebyli smícháni, ale byla použita populace s vyšším počtem jedinců, přednostně z hory Mt. Cameroon. Důvodem je, že znaky spermií, ať už jejich délka nebo variabilita, se mohou mezi populacemi lišit, a dále tyto oblasti bývají často obývány jinými poddruhy daného druhu, kdy v některých případech je jeden z těchto poddruhů již považován za samostatný druh (např. *Pseudoalcipe atriceps* z Bamendy byl původně *Pseudoalcipe abyssinica atriceps*, poddruh *Pseudoalcipe abyssinica* z Mt. Cameroonu). Ve fylogenetických stromech se u některých druhů pracuje se

starším názvem, proto v této práci nejsou všechny názvy druhů pod aktuálně uznávaným jménem. Příkladem toho je právě výše zmíněný druh *Pseudoalcipe abyssinica*, který momentálně patří do rodu *Sylvia* (aktuálně uznávaný název druhu *Sylvia abyssinica*).

Datové sady, na kterých analýzy probíhaly, se lišily v počtu druhů, a to z důvodu omezeného počtu samců na druh. Jak již bylo řečeno výše, k určení CV_{bm} jsou potřební nejméně 4 samci, ovšem mnoho druhů je v mém datasetu zastoupeno jen 1 až 3 jedinci. Základní datová sada na analyzování CV_{bm} proto představuje jen 65 tropických a temperátních druhů (39 tropických, 26 temperátních). Důvodem dalšího omezení počtu druhů v některých analýzách je omezená dostupnost potřebných informací. Data o EPP (převzatá z literatury) jsou dostupná převážně (pro tuto práci zcela, jelikož pro mé tropické druhy neexistuje ani jediný záznam EPP) pro temperátní druhy, ačkoliv i u těch je dostupnost omezená. Ekologická data jsem čerpala z práce Ference *et al.* (2016), jejichž výzkum probíhal na hoře Mt. Cameroon. Informace o nadmořské výšce, hustotě populací a altitudinálním rozsahu areálu jsou proto dostupné jen pro tropické druhy z této oblasti, ale už ne pro ty z Bamenda highland. Migrační vzdálenost byla určena prostřednictvím webové stránky Handbook of the Birds of the World (<https://www.hbw.com>), kde je ukázána oblast zimování jednotlivých druhů, a Google Earth (Google Inc. 2017), který umožňuje změřit vzdálenost mezi Českou republikou a středem zimoviště. Údaje o velikosti snůšky a hmotnosti těla byly získány pro všech 65 druhů. Tyto informace byly převzaty z práce Jetz *et al.* 2008 (velikost snůšky) a z webové stránky Handbook of the Birds of the World (<https://www.hbw.com>) (velikost snůšky, hmotnost).

3.3.5. Statistické analýzy

Statistické analýzy byly vytvořeny v programu R 3.3.3 (R Core Team 2017). Byla využita analýza generalised least squares s fylogenetickou korelací (PGLS), viz Příloha 1, aby bylo možné zjistit, zda je daný vztah ovlivněn společným předkem (Freckleton *et al.* 2002). Tato analýza byla provedena za pomoci skriptu poskytnutého R. P. Freckletonem, Department of Animal and Plant Sciences, The University of Sheffield. Pro každou datovou sadu bylo před analýzou vygenerováno 1000 možných fylogenetických stromů (<https://birdtree.org/>), ze kterých byl posléze vytvořen jeden konsenzuální (BEAST.v2.4.7; FigTree v1.4.3).

Některé fenotypové znaky použité v analýzách byly ovlivněné dalším znakem – délka krčku celkovou délkou spermie a velikost kloakálního výčnělku (objem i výška) velikostí těla. Proto jsem nejprve provedla analýzu těchto znaků, abych zjistila reziduální hodnoty. Ty pak

byly dále použity jako relativní délka krčku a relativní objem či velikost kloakálního výčnělku.

Na počátku analýz bylo zkontrolováno rozložení hodnot, pokud nebylo splněno normální (Gaussovo) rozložení (Shapiro-Wilkův test normality), hodnoty byly logaritmicky transformovány. V analýzách jsem využila modely s jednou proměnnou i plné modely. Ty zahrnovaly všechny proměnné potenciálně vysvětlující závislou proměnnou, ze kterých jsem postupně odebírala nejvíce nevýznamné (přednostně interakce). Tímto způsobem jsem dospěla k vytvoření minimálního adekvátního modelu (MAM), pokud alespoň jedna vysvětlující proměnná byla významná, nebo k nulovému modelu, pokud žádná proměnná významná nebyla. Hodnota byla považována za významnou, pokud $p < 0,05$.

Jako index fylogenetické závislosti je využita λ , která dosahuje hodnot od 0 (úplná fylogenetická nezávislost znaku) po 1 (úplná fylogenetická závislost znaku). Horní index λ , ukazuje významnost p , když $\lambda = 0$. Dolní index λ , ukazuje významnost p , když $\lambda = 1$ (Freckleton *et al.* 2002).

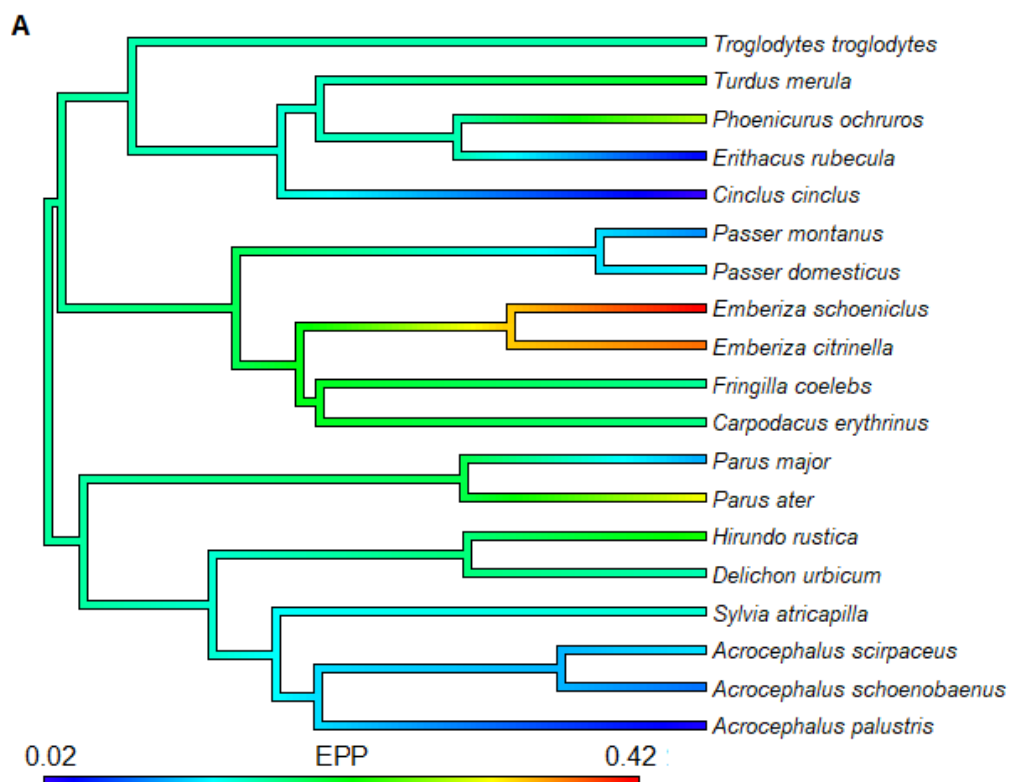
4. Výsledky

4.1. Vliv znaků spermií na míru promiskuity

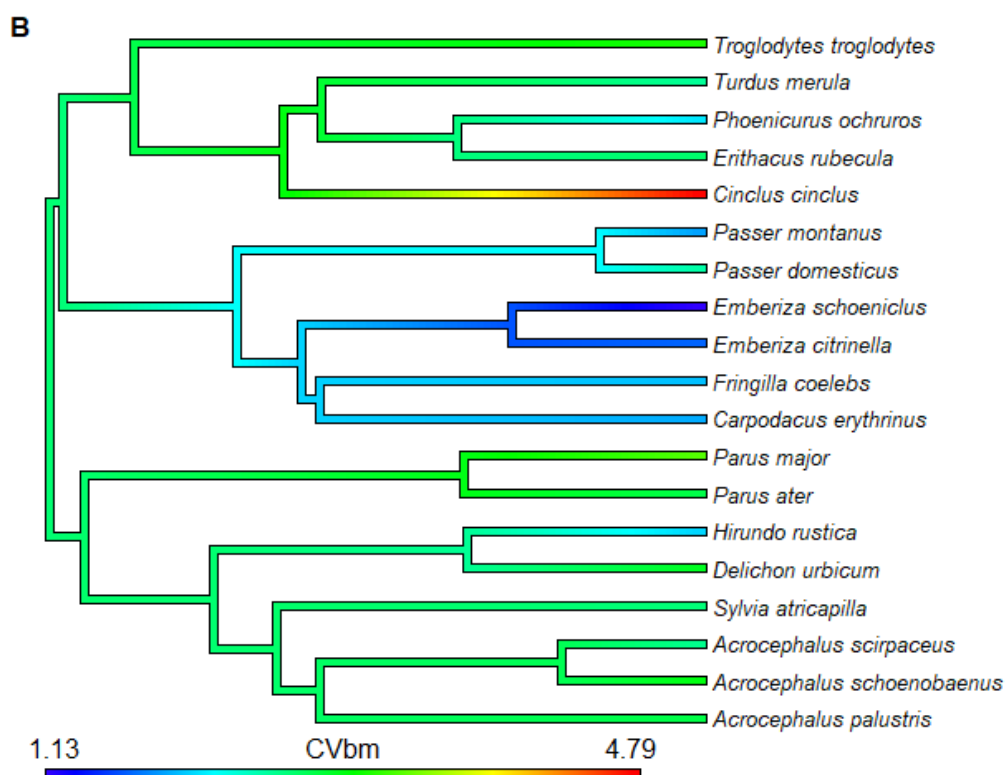
V analýzách znaků spermií bývá často používána celková délka spermií, případně relativní délka jejich jednotlivých částí (hlavička, krček, ocásek). V následujících modelech využívám relativní délku krčku, která je vyjádřena jako residuální krček. Kromě těchto rozměrů je také možné využít variabilitu spermií, určenou prostřednictvím koeficientu variability, a to jak v rámci samce (CV_{wm}), tak mezi samci jednoho druhu (CV_{bm}). K testování vztahu odhadované míry promiskuity prostřednictvím míry EPP jsem použila čtyři znaky spermií, u kterých se předpokládá, že by na ně promiskuita měla mít vliv – CV_{bm} , CV_{wm} , celkovou délku spermie a relativní délku krčku. Všechny tyto znaky se mezi druhy značně liší. Přestože moje databáze zahrnuje údaje o spermiích pro mnoho druhů ($n = 65$) z tropické i temperátní oblasti, mohla jsem využít k analýze vztahu těchto znaků spermií a míry promiskuity vyjádřené EPP pouze malý počet temperátních druhů, jelikož míra EPP je dostupná jen pro omezený počet, většinou temperátních druhů. Tyto druhy se navíc ne vždy překrývaly s těmi, u kterých jsem získala dostatečný počet jedinců k určení CV_{bm} , proto tyto analýzy čítají jen 19 druhů (Obr. 2A-D; Tab. 1), fylogenetický strom viz Příloha 2.

Tab. 1: Hodnoty znaků spermií a míry mimopárové paternity (EPP) 19 temperátních druhů použitých v analýze.

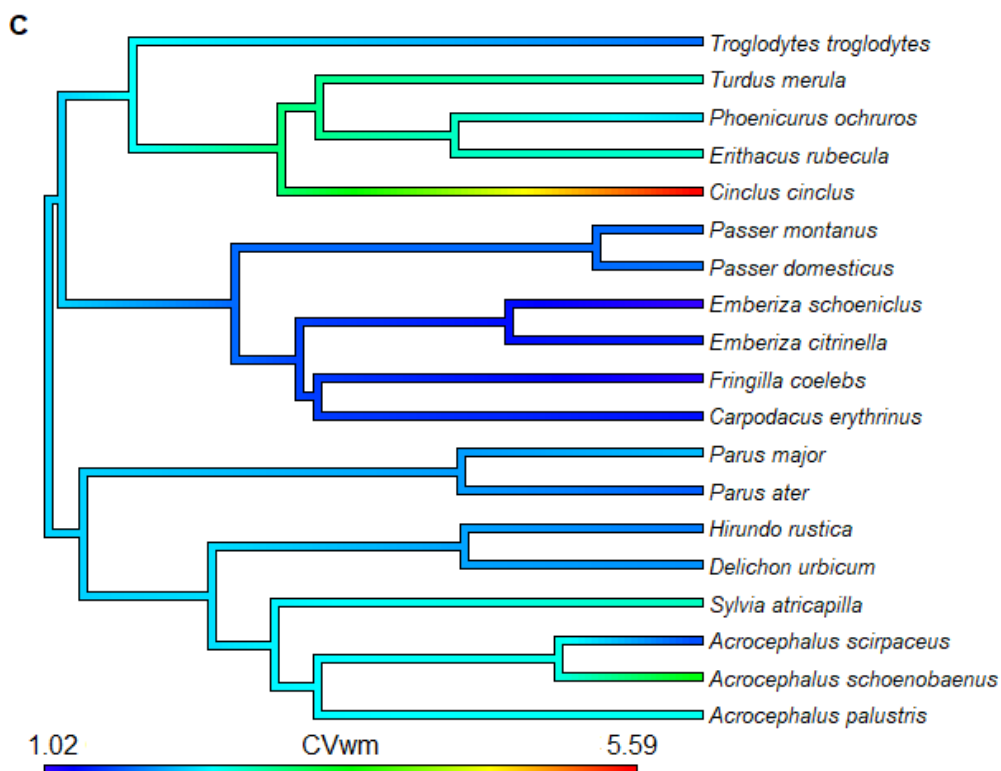
Druh	Délka spermií (μ)	Délka krčku (μ)	CV_{bm}	CV_{wm}	EPP
<i>Acrocephalus palustris</i>	103,95	73,42	3,10	2,41	0,03
<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	107,53	77,37	2,56	1,55	0,12
<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>	88,39	54,84	3,00	3,38	0,08
<i>Carpodacus erythrinus</i>	271,47	240,45	1,30	1,89	0,18
<i>Cinclus cinclus</i>	45,91	6,44	4,79	5,59	0,02
<i>Delichon urbicum</i>	94,97	64,70	2,94	1,86	0,16
<i>Emberiza citrinella</i>	127,94	94,48	1,65	1,35	0,37
<i>Emberiza schoeniclus</i>	280,22	247,52	1,13	1,02	0,41
<i>Erithacus rubecula</i>	131,28	80,18	2,68	2,53	0,04
<i>Fringilla coelebs</i>	252,37	222,83	1,10	1,96	0,17
<i>Hirundo rustica</i>	87,60	57,07	1,77	2,03	0,23
<i>Parus ater</i>	90,81	51,07	2,80	1,63	0,31
<i>Parus major</i>	96,44	56,88	3,34	2,04	0,10
<i>Passer domesticus</i>	98,90	65,20	2,49	1,73	0,13
<i>Passer montanus</i>	91,88	59,77	1,85	1,66	0,09
<i>Phoenicurus ochruros</i>	181,44	139,90	2,30	2,33	0,29
<i>Sylvia atricapilla</i>	74,15	50,36	2,64	2,60	0,15
<i>Troglodytes troglodytes</i>	90,36	66,07	2,16	1,82	0,16
<i>Turdus merula</i>	80,31	46,37	2,53	2,57	0,22



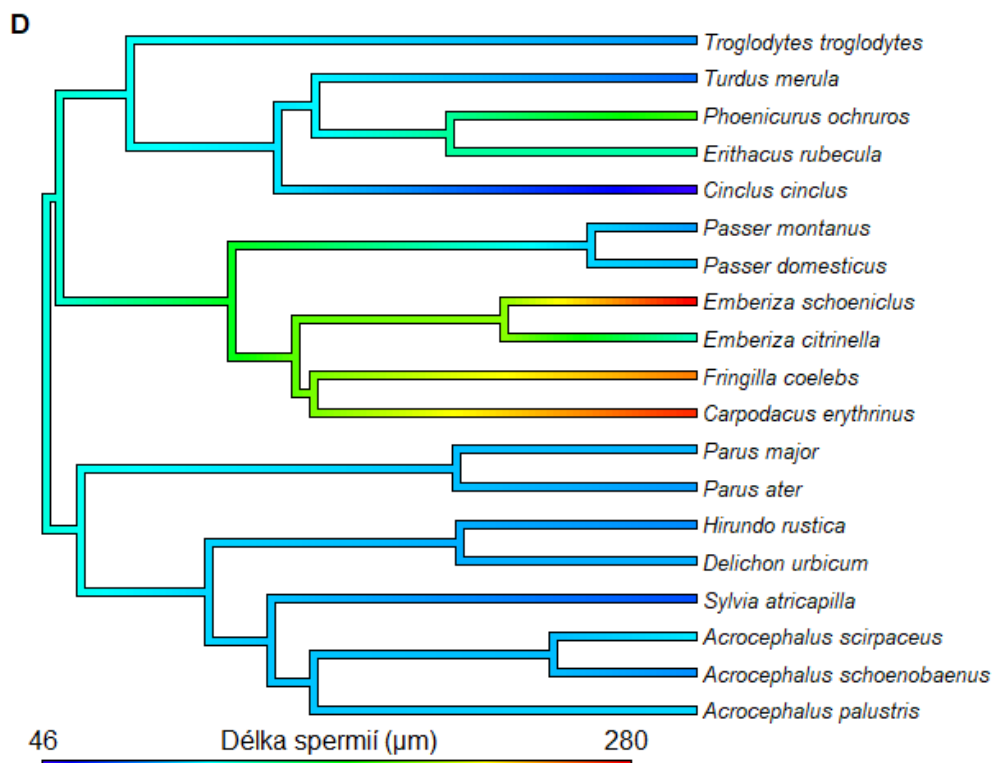
Obr. 2A: Míra mimopárových paternit (EPP), kde teplejší barva představuje jejich vyšší míru.



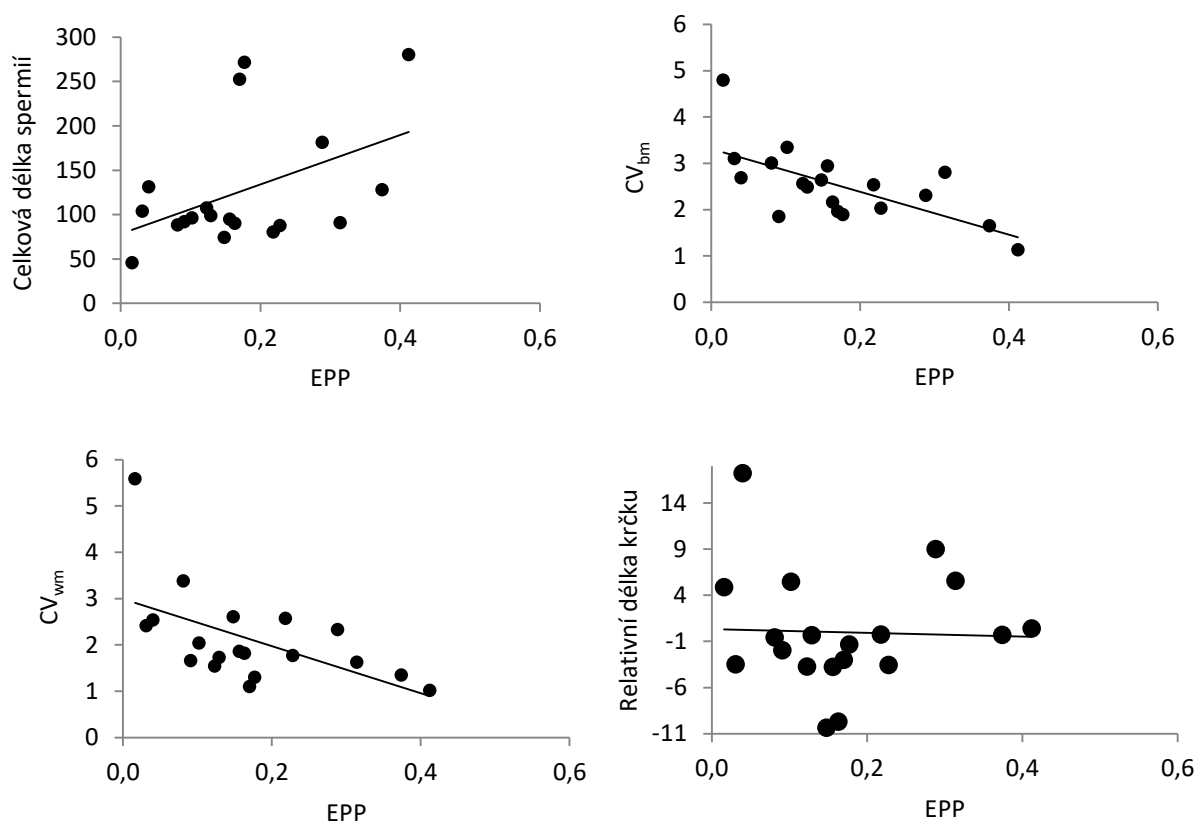
Obr. 2B: Míra mezisamčí variability v celkové délce spermií (CV_{bm}), kde teplejší barva představuje vyšší variabilitu a naznačuje nižší odhadovanou promiskuitu



Obr. 2C: Míra vnitrosamčí variability v celkové délce spermií (CV_{wm}), kde teplejší barva představuje vyšší variabilitu a naznačuje nižší odhadovanou promiskuitu.



Obr. 2D: Průměrná celková délka spermií druhu, kde teplejší barva představuje delší spermie a naznačuje vyšší odhadovanou promiskuitu.



Obr. 3: Znáznornění vztahu mezi mírou mimopárové paternity (EPP) a jednotlivými znaky spermií. V případě relativní délky krčku (pravý dolní graf) jsou použity residuály z analýzy průměrné délky krčku na průměrné celkové délce spermií.

Podle předpokladu CV_{bm} významně negativně koreloval s mírou EPP ($F = 12,21$; $p < 0,01$; $r^2 = 0,42$; $\lambda < 0,01^{1; 0,11}$; slope = $-0,09 \pm 0,03$) a byl z daných proměnných nejlepším ukazatelem míry EPP, vysvětlujícím více než 41 % jeho celkových rozdílů. Významná korelace byla také zjištěna mezi EPP a CV_{wm} ($F = 7,27$; $p = 0,02$; $r^2 = 0,29$; $\lambda < 0,01^{1; 0,10}$; slope = $-0,06 \pm 0,02$), tyto vztahy jsou znázorněny na Obr. 3. Patrný byl vztah i mezi EPP a celkovou délkou spermií ($F = 4,30$; $p = 0,05$; $r^2 = 0,20$; $\lambda < 0,01^{1; 0,08}$; slope = $7 \times 10^{-4} \pm 3 \times 10^{-4}$), avšak tento vztah byl jen mírně nad hranicí významnosti. Naproti tomu míra EPP nekorelovala s relativní délkou krčku ($F = 0,25$; $p = 0,62$; $r^2 = 0,01$; $\lambda = 0,50^{0,51; 0,63}$; slope = $2 \times 10^{-3} \pm 5 \times 10^{-3}$).

4.2. Relativní velikost kloakálního výčnělku a míra kompetice spermií

Při zkoumání vztahu mezi velikostí kloakálního výčnělku (CP) a prediktory intenzity kompetice spermií byly použity dvě sady vzorků v závislosti na dostupných datech. Jako velikost kloakálního výčnělku jsem používala jak objem, tak i jeho výšku.

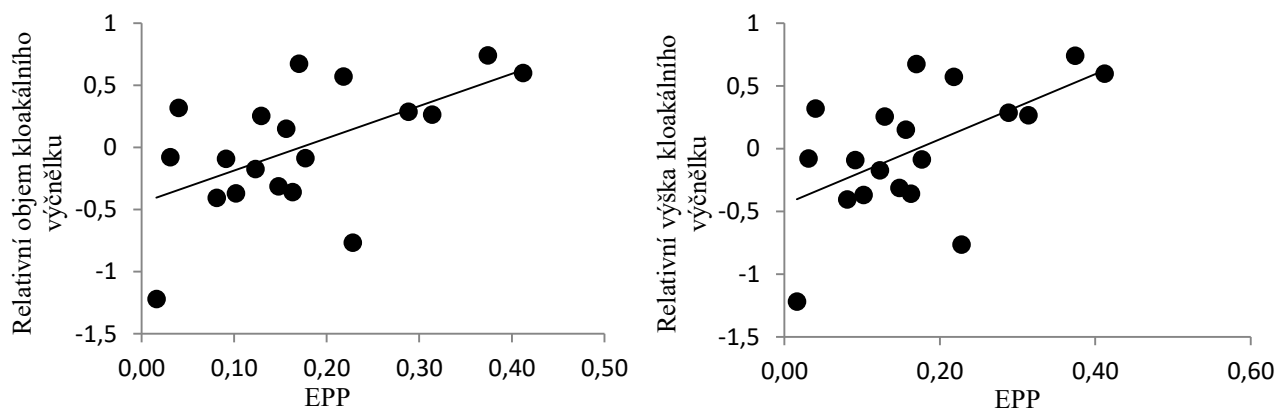
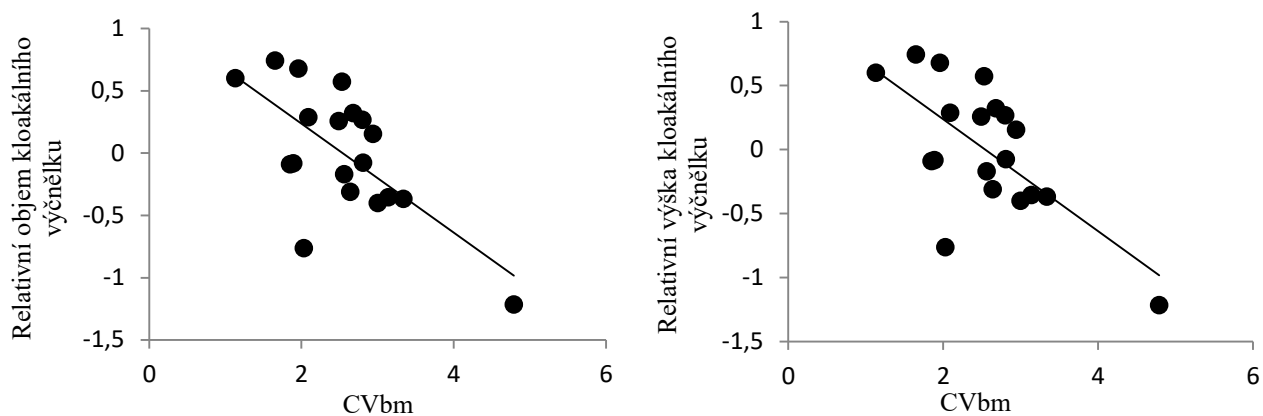
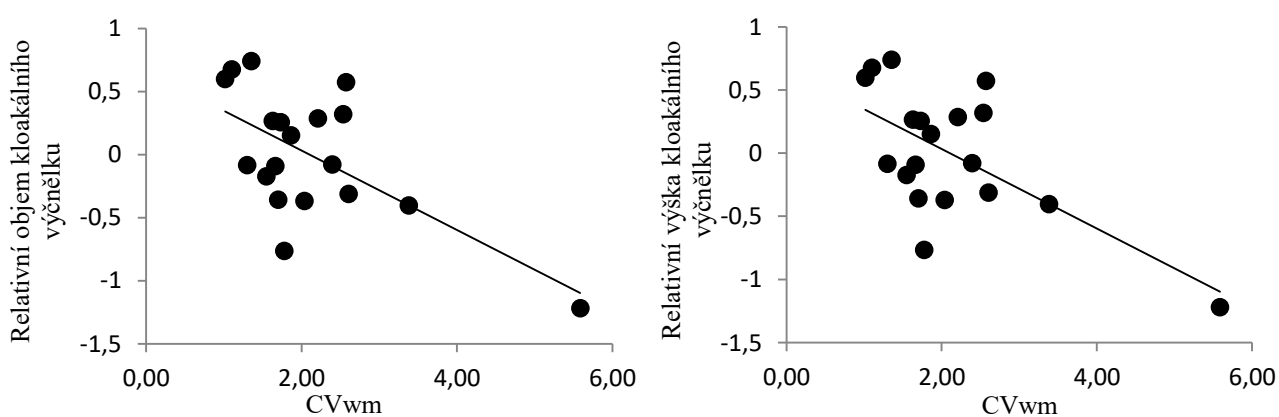
Na datasetu 19 temperátních druhů jsem nejdříve ověřovala vztah mezi velikostí kloakálního výčnělku a mírou EPP. Tento vztah byl významný (relativní objem kloakálního výčnělku: $F = 7,90$; $p = 0,01$; $r^2 = 0,32$; $\lambda < 0,01^{1;0,06}$; slope = $2,59 \pm 0,92$; relativní výška kloakálního výčnělku CP: $F = 11,28$; $p < 0,01$; $r^2 = 0,39$; $\lambda < 0,01^{1;0,03}$; slope = $1,14 \pm 0,34$). A dále jsem zkoumala vztah i mezi relativní velikostí kloakálního výčnělku abych mohla porovnat, který z těchto prediktorů promiskuity je lepším ukazatelem velikosti kloakálního výčnělku. Zopakovala jsem tedy analýzu vztahu relativní velikosti kloakálního výčnělku s CV_{bm} a také s CV_{wm} na tomto datasetu 19 druhů, aby bylo možné přímé srovnání. Tato analýza ukázala, že lepším ukazatelem velikosti kloakálního výčnělku jsou koeficienty variance (Tab. 2 a 3; Obr. 4).

Tab. 2: Srovnání výsledků analýz relativního objemu kloakálního výčnělku (A) s vysvětlujícími proměnnými – mírou mimopárové paternity (EPP), mezisamčím koeficientem v délce spermií (CV_{bm}) a vnitrosamčím koeficientem v délce spermií (CV_{wm}).

	Slope \pm s.e.	t-value	p-value	λ	r^2
EPP	$2,59 \pm 0,92$	2,81	0,01	$< 0,01^{1;0,06}$	0,32
CV_{bm}	$-0,43 \pm 0,12$	-3,66	$< 0,01$	$< 0,01^{1; < 0,01}$	0,44
CV_{wm}	$-0,31 \pm 0,10$	-3,25	$< 0,01$	$0,30^{0,48; 0,10}$	0,38

Tab. 3: Srovnání výsledků analýz relativní výšky kloakálního výčnělku (A) s vysvětlujícími proměnnými – mírou mimopárové paternity (EPP), mezisamčím koeficientem v délce spermií (CV_{bm}) a vnitrosamčím koeficientem v délce spermií (CV_{wm}).

	Slope \pm s.e.	t-value	p-value	λ	r^2
EPP	$1,14 \pm 0,34$	3,36	$< 0,01$	$< 0,01^{1;0,03}$	0,40
CV_{bm}	$-0,18 \pm 0,04$	-4,14	$< 0,01$	$< 0,01^{1; < 0,01}$	0,50
CV_{wm}	$-0,13 \pm 0,04$	-3,43	$< 0,01$	$0,46^{0,24; 0,4}$	0,41

A**B****C**

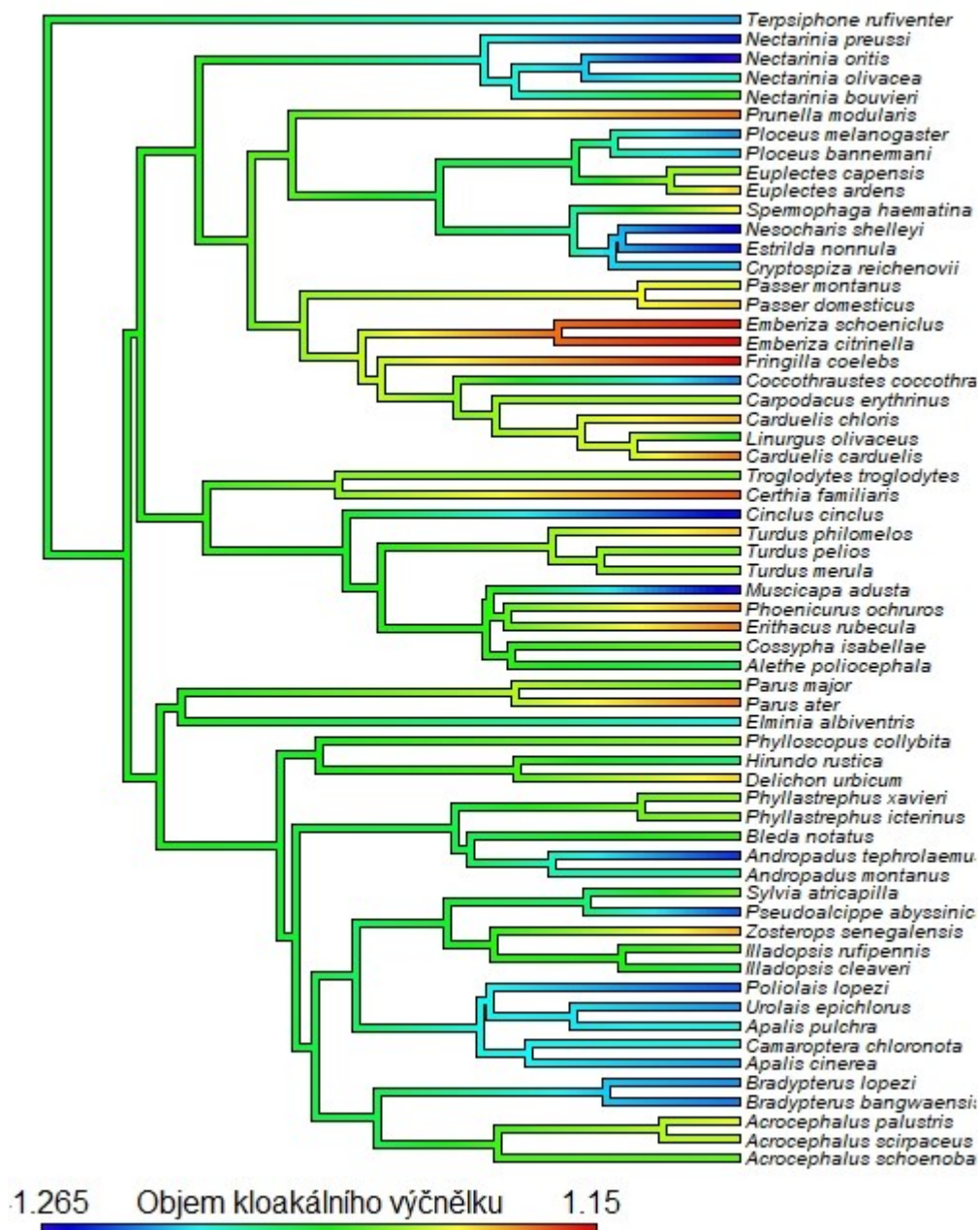
Obr. 4: Grafy ukazující vztah mezi relativním objemem a relativní výškou kloakálního výčnělku (vyjádřený jako reziduální hodnoty) ve vztahu s mírou mimopárové paternity (EPP) (A), mezisamčí variabilitou v celkové délce spermií (CV_{bm}) (B) a vnitrosamčí variabilitou v celkové délce spermií (CV_{wm}) (C).

Na tomto souboru druhů ($n = 19$) jsem také zkoumala, zda se velikost kloakálního výčnělku mění s celkovou délkou spermií, a tento vztah by také významný (relativní objem CP: $F = 6,11$ $p = 0,02$; $r^2 = 0,26$; $\lambda < 0,01^{1; 0,03}$; slope = $3 \times 10^{-3} \pm 1 \times 10^{-3}$; relativní výška CP: $F = 12,86$; $p < 0,01$; $r^2 = 0,43$; $\lambda < 0,01^{1; < 0,01}$; slope = $1 \times 10^{-3} \pm 5 \times 10^{-4}$). Proto jsem dále zkoumala, zda velikost kloakálního výčnělku souvisí spíše s promiskuitou či délkou spermií a vytvořila jsem analýzu zahrnující míru mimopárových paternit i délku spermií. Výsledky ukazují, že relativní objem kloakálního výčnělku souvisí více s EPP než s délkou spermií (Tab. 4).

Tab. 4: Výsledky analýzy srovnávající vliv míry mimopárových paternit (EPP) a délky spermií na relativní objem kloakálního výčnělku.

proměnná	Slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	-0,61 \pm 0,22	-2.79	0,01
EPP	1,91 \pm 1,00	1,91	0,07
Délka spermií	$2 \times 10^{-3} \pm 1 \times 10^{-3}$	1,50	0,15

Druhá datová sada zahrnovala vzorky 61 druhů tropických ($n = 35$) i temperátních ($n = 26$) ptáků (Obr. 5), fylogenetický strom viz Příloha 3. V této analýze byl zkoumán vztah relativní velikosti kloakálního výčnělku, vedený jako objem a jako výška, a koeficientu variability v délce spermií, jak mezisamčího, tak vnitrosamčího. Relativní objem kloakálního výčnělku významně koreloval s mezisamčím koeficientem variance v délce spermií ($F = 4,56$; $p = 0,04$; $r^2 = 0,07$; $\lambda = 0,75^{0,02; 0,0,31}$; slope = $-0,16 \pm 0,07$) i s vnitrosamčím koeficientem ($F = 16,67$; $p < 0,01$; $r^2 = 0,22$; $\lambda = 0,55^{0,05; 0,02}$; slope = $-0,28 \pm 0,07$). Významná korelace byla také zjištěna mezi relativní výškou kloakálního výčnělku a CV_{bm} ($F = 4,36$; $p = 0,04$; $r^2 = 0,07$; $\lambda = 0,36^{0,38; 0,01}$; slope = $-0,06 \pm 0,03$) i CV_{wm} ($F = 15,87$; $p < 0,01$; $r^2 = 0,21$; $\lambda = 0,18^{0,82; < 0,01}$; slope = $-0,10 \pm 0,02$).

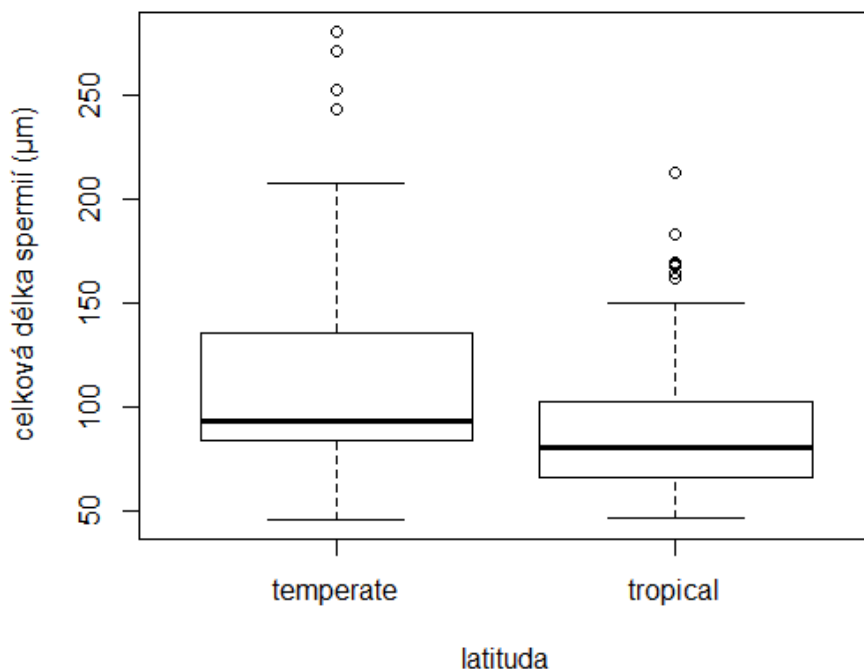


Obr. 5: Fylogenetický strom znázorňující relativní objem kloakálního výčnělku. Ten představuje residuály z fylogenetické analýzy objemu kloakálního výčnělku a hmotnosti. Teplejší barvy představují větší relativní objem výčnělku.

4.3. Znaky spermií a parametry ekologie a životní strategie

Dalšími analýzami bylo zkoumáno, jak se liší míra promiskuity, odhadnutá pomocí koeficientů variance, a délka spermií v souvislosti s dvěma gradienty (zeměpisnou šířkou a

nadmořskou výškou) a znaky ekologie a životních strategií (populační hustota, migrace, velikost snůšky, velikost těla). Jako první jsem testovala hypotézu, že tropické druhy mají nižší míru promiskuity než druhy temperátní, a tedy, že CV_{bm} bude vyšší u těchto druhů. Tato analýza probíhala na 65 druzích ze dvou latitudinálních oblastí (tropické $n = 39$; temperátní $n = 26$), u kterých jsem byla schopna vypočítat CV_{bm} , fylogenetický strom viz Příloha 4. Výsledky naznačují, že zde není významný trend ($F = 0,83$; $p = 0,37$; $r^2 = 0,01$; $\lambda < 0,01^{1; <0,01}$; slope = $0,09 \pm 0,09$). Podobně je tomu i ve vztahu CV_{wm} a latitudy ($F = 2,96$; $p = 0,09$; $r^2 = 0,04$; $\lambda = 0,29^{0,33; <0,01}$; slope = $0,171 \pm 0,10$). Latitudinální trend jsem zkoumala také u celkové délky spermií a relativní délky krčku. Zde jsem využila největší možnou sadu druhů, která zahrnovala 136 druhů (53 temperátních a 83 tropických), fylogenetický strom viz Příloha 5. Průměrné celkové délky spermií se pohybovaly od 45,91 μm u skorce vodního, *Cinclus cinclus*, do 280,22 μm u strnada rákosního, *Emberiza schoeniclus*. Ukázalo se, že temperátní druhy mají větší rozsah délek spermií než druhy tropické, viz Obr. 6. Také jsem zjistila, že celková délka spermií se liší s latitudou, kdy temperátní druhy mají delší spermie než druhy tropické ($F = 4,19$; $p = 0,04$; $r^2 = 0,03$; $\lambda = 1^{0; 1}$; slope = $-14,77 \pm 7,27$), ovšem v tomto modelu residuály neměly úplně normální rozložení hodnot. Relativní délka krčku se mezi dvěma oblastmi nelišila ($F = 0,36$; $p = 0,40$; $r^2 < 0,01$; $\lambda = 1^{0; 1}$; slope = $-1,02 \pm 1,20$).



Obr. 6: Srovnání délky spermií mezi dvěma zeměpisnými šířkami.

Altitudinální trend jsem mohla zkoumat pouze na některých tropických druzích ($n = 25$), fylogenetický strom viz Příloha 6, protože z práce Ference *et al.* 2016 jsem měla dostupná různá ekologická data pouze pro druhy žijící na hoře Mt. Cameroon. V této analýze jsem využila informaci o tom, v které výšce měl daný druh nejvyšší hustotu (hustota populace měřená v 7 nadmořských výškách od 30 m n. m. po 2200 m n. m.), a tu použila jako výšku, v které druh žije. Na základě výsledků analýz vztahu CV s altitudou se zdá, že míra promiskuity se s nadmořskou výškou významně nemění (CV_{bm} : $F = 0,13$; $p = 0,72$; $r^2 = 0,01$; $\lambda < 0,01^{1; <0,01}$; slope = $4 \times 10^{-5} \pm 1 \times 10^{-4}$; CV_{wm} : $F = 3,47$; $p = 0,075$; $r^2 = 0,13$; $\lambda = 0,60^{0,16; 0,14}$; slope = $2 \times 10^{-4} \pm 9 \times 10^{-5}$). Ovšem ve vztahu CV_{wm} a nadmořské výšky je patrné nevýznamné zvyšování variability v délce spermií s rostoucí altitudou. V délce spermií byl tento trend významný. S rostoucí nadmořskou výškou se délka spermií zvyšovala ($F = 5,78$; $p = 0,03$; $r^2 = 0,20$; $\lambda < 0,01^{1; 0,007}$; slope = $-2 \times 10^{-4} \pm 8 \times 10^{-5}$). Relativní délka krčku spermií se s altitudou nelišila ($F = 0,19$; $p = 0,55$; $r^2 = 0,01$; $\lambda = 1^{<0,01; 1}$; slope = $5 \times 10^{-5} \pm 8 \times 10^{-5}$).

Na stejné datové sadě na základě dalších údajů od Ferenc *et al.* (2016) jsem zkoumala, zda jsou koeficienty variance ovlivňovány znaky ekologií jako jsou hustota populace a rozsah obývaných altitud. Kromě toho byla v těchto analýzách také zahrnuta nadmořská výška a hmotnost těla (Tab. 5). Použila jsem víceproměnné modely a postupně ubírala nejméně významné vysvětlující proměnné. Zjistila jsem, že žádná z nich významně nevysvětlovala CV_{bm} ani CV_{wm} , jelikož výsledný model byl nulový.

Tab. 5: Výsledky plných modelů vztahu CV_{bm} (A) a CV_{wm} (B) se znaky ekologie. Altituda představuje maximální výšku, ve které byl druh zaznamenán. Hustota je populační hustota v nadmořské výšce, kde druh vykazuje nejvyšší hustotu v rámci altitudinálního gradientu. Rozsah představuje rozsah výšek, ve kterých se daný druh vyskytoval. Údaje o rozsahu altitud, hutotě a altitudě jsou převzaty z Ferenc *et al.* 2016.

A

proměnná	slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	$2,67 \pm 1,04$	2,57	0,02
altituda	$6 \times 10^{-5} \pm 3 \times 10^{-4}$	0,17	0,87
hustota	$-0,01 \pm 0,02$	-0,33	0,74
rozsah	$3 \times 10^{-4} \pm 1 \times 10^{-3}$	0,56	0,58
hmotnost těla	$0,01 \pm 0,03$	0,15	0,88

B

proměnná	slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	$0,83 \pm 0,27$	3,10	0,01
altituda	$1 \times 10^{-4} \pm 9 \times 10^{-5}$	1,31	0,20
hustota	$-0,01 \pm 0,01$	-0,98	0,34
rozsah	$2 \times 10^{-4} \pm 2 \times 10^{-4}$	0,90	0,38
hmotnost těla	$-0,01 \pm 0,01$	-1,72	0,10

Ve zvláštních analýzách jsem zkoumala vztah mezi koeficienty variance, délkou spermií a migrační vzdáleností. Zahrnuty byly jen temperátní druhy ($n = 26$), fylogenetický strom viz Přílohy 7, protože tropické druhy jsou většinou nestěhovavé nebo migrují jen na krátké vzdálenosti. Vytvořila jsem modely, které testovaly lineární i polynomický vztah a zároveň jsem v analýzách zohlednila hmotnost těla, která migraci může ovlivňovat. Výsledky ukázaly, že ani CV_{bm} ani CV_{wm} významně nesouvisely s migrační vzdáleností (Tab. 6A, B). Celková délka spermií v počátečním plném modelu (Tab. 6A) ukazovala významný (i když slabý) lineární vztah s migrací, ale po odebrání nevýznamných proměnných byl výsledný model nulový.

Tab. 6: Modely vlivu migrační vzdálenosti na CV_{bm} (A), CV_{wm} (B) a délku spermií (C). Migrace 1 představuje lineární vztah, migrace 2 vztah polynomický.

A

proměnná	slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	$0,80 \pm 0,13$	6,02	< 0,01
migrace 1	$-0,18 \pm 0,40$	-0,46	0,65
migrace 2	$0,47 \pm 0,35$	1,35	0,19
hmotnost těla	$0,01 \pm 4 \times 10^{-3}$	1,75	0,09

B

proměnná	slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	$0,44 \pm 0,13$	3,33	< 0,01
migrace 1	$0,15 \pm 0,40$	0,37	0,72
migrace 2	$0,24 \pm 0,35$	0,69	0,50
hmotnost těla	$0,01 \pm 4 \times 10^{-3}$	2,18	0,04

C

proměnná	slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	$4,80 \pm 0,18$	26,88	0
migrace 1	$0,98 \pm 0,46$	2,14	0,04
migrace 2	$-0,64 \pm 0,36$	-1,78	0,09
hmotnost těla	$-0,01 \pm 4 \times 10^{-3}$	-1,61	0,12

Analýzu vztahu mezi odhadovanou promiskuitou pomocí koeficientů variance a znaky životních strategií jsem mohla provést na větší datové sadě. Ta zahrnovala 65 druhů z tropů i temperátu. Vysvětlujícími proměnnými byly latituda, hmotnost těla, velikost snůšky a interakce velikosti snůšky s latitudou, jelikož některé práce (Albrecht *et al.* 2013) ukázaly, že vztah mezi velikostí snůšky a odhadovanou mírou promiskuity se může lišit mezi tropickou a temperátní oblastí. Opět jsem využila víceproměnné modely (plné modely viz Tab. 7) a z těchto plných modelů postupně odebírala nejméně významné vysvětlující proměnné

(přednostně nevýznamné interakce – v tomto případě velikost snůšky:latituda). Ačkoliv v jednom modelu se hmotnost těla jevila jako významná vysvětlující proměnná, tento vztah zmizel po odebrání nevýznamné velikosti snůšky. Jak CV_{bm} , tak ani CV_{wm} se významně nelišil s danými proměnnými a oba výsledné modely byly opět nulové.

Tab. 7: Výsledky plných modelů vlivu znaků životních strategií na CV_{bm} (A) a CV_{wm} (B).

A

proměnná	slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	0,42 \pm 0,29	1,43	0,16
latituda	0,34 \pm 0,31	1,07	0,29
hmotnost těla	0,01 \pm 3 \times 10 ⁻³	2,21	0,03
velikost snůšky	0,07 \pm 0,05	1,40	0,17
velikost snůšky:latituda	-0,01 \pm 0,08	-0,17	0,87

B

proměnná	slope \pm s.e.	t-value	p-value
(intercept)	0,39 \pm 0,34	1,17	0,25
latituda	0,19 \pm 0,35	0,42	0,68
hmotnost těla	0,01 \pm 3 \times 10 ⁻³	0,41	0,07
velikost snůšky	0,03 \pm 0,06	0,42	0,68
velikost snůšky:latituda	0,04 \pm 0,10	1,82	0,69

5. Diskuse

5.1. Znaky spermií a míra promiskuity

S novými genetickými metodami nastal důležitý zlom ve výzkumu ptačích rozmnožovacích systémů. Ukázalo se, že mnoho sociálně monogamních druhů vykazuje vysokou míru promiskuity. Ta se mezi ptačími druhy liší a mezi pěvci, největším ptačím řádem, jsou její rozdíly obzvláště velké (Griffith *et al.* 2002). Ovšem její zkoumání je poměrně problematické. Velká většina prací využívá genetické metody ke stanovení míry mimopárových paternit (a tedy i odhadu míry kompetice spermií), ty však vyžadují drahé přístroje a hlavně podrobné vzorkování rodičů a všech jejich potomků, aby bylo možné zjistit procento vnitropárových a mimopárových mláďat. To bývá často složité a omezuje to znalosti o míře promiskuity jen na několik desítek převážně temperátních druhů. Část výzkumů využívá relativní velikost varlat, tato metoda je ale méně spolehlivá, jelikož velikost varlat se během roku mění (Calhim a Birkhead 2007) a není vždy jasné, že vzorky pocházejí z pohlavně aktivních jedinců. Vyžaduje méně odchycených jedinců, kteří ale v tomto případě musí být usmrceni. Proto se hledají alternativní spolehlivé metody k měření míry promiskuity.

Spermie jakožto zprostředkovatelé oplodnění hrají ve výzkumu promiskuity významnou roli a jsou středem zájmu mnoha studií. Jejich odběr je možný, aniž by došlo k usmrcení jedince (Wolffson 1952). Tato metoda je známá již dlouhou dobu, ale znovu se začala využívat až v posledních letech (Lifjeld *et al.* 2010). Vysoká diverzita spermií je do velké míry způsobena různou mírou kompetice spermií (Immler a Birkhead 2007). Tato diverzita se z velké části odráží na velikosti spermií, a to jak na celkové délce, tak na délce jejich jednotlivých částí, což je jistě jedním z důvodů zájmu o výzkum vztahu mezi délkou spermií nebo jejich částí a mírou kompetice spermií. Diverzita ovšem také existuje na nižší než druhové úrovni a délka spermií se liší i mezi samci jednoho druhu či v rámci jednoho samce (Pitnick *et al.* 2009).

Ovšem spojení mezi promiskuitou a variabilitou bylo zjištěno až poměrně nedávno (Kleven *et al.* 2008, Immler *et al.* 2008). Obě tyto studie ukázaly, že míra EPP souvisí s CV_{bm} a doložily tak, že kompetice spermií vytváří tlak na snížení fenotypové variability spermií. Až Lifjeld *et al.* (2010) využili tento vztah i opačným směrem a navrhli koeficienty variance (CV_{bm} i CV_{wm}) jako ukazatele míry promiskuity, vhodné obzvláště u druhů, u kterých není známa míra EPP. Mezisamčí variabilitu (CV_{bm}) představili jako kvalitnější ukazatel míry

promiskuity, vysvětlující až 65 % rozdílů v míře promiskuity a zároveň neovlivněný fylogenezí. Moje práce tyto výsledky potvrdila. I na mém souboru druhů CV_{bm} vysvětloval nejvíce rozdílů v míře promiskuity (taktéž odhadnuté na základě míry mimopárové paternity (EPP)), 42 %, a tento vztah nebyl fylogeneticky ovlivněn. Významný vztah byl také mezi CV_{wm} a mírou promiskuity, který vysvětloval 29 % rozdílů a stejně jako CV_{bm} se jevil jako fylogeneticky nezávislý. Těchto výsledků bylo dosaženo na základě dat o délce spermií a míře EPP získaných z různých populací jednotlivých druhů, proto odpovídají spíše výsledkům dalších analýz Lifjelda *et al.* (2010), kdy jsou využita data i z jiných populací a výsledky jsou velmi podobné těm mým s CV_{bm} vysvětlujícím 40 % a CV_{wm} vysvětlujícím 31 % variability v EPP. Tento pokles je způsoben různou mírou promiskuity lišící se nejen mezi druhy, ale také mezi jejich populacemi či prostředím. Žádná populace nečelí přesně stejným podmínkám. V případě, že tyto podmínky mají vliv na míru promiskuity, jako například dostupnost potravy v době rozmnožování (její nedostatek zvýší potřebu otcovské péče a proto si samice nemohou dovolit vyhledávat mimopárové kopulace (Mauck *et al.* 1999)), mohou vytvořit rozdíly v míře promiskuity i v rámci jednoho druhu (např. Laskemoen *et al.* 2013). Z tohoto důvodu jsou koeficienty založené na datech ze stejných populací, ze kterých pocházejí i data o EPP, přesnější.

Oproti předchozím dvěma znakům spermií vztah mezi délkou spermií nebo relativní velikostí krčku a mírou promiskuity nebyl významný, ačkoliv pozitivní vztah mezi délkou spermií a mírou promiskuity byl patrný. To se může jevit jako překvapivé, protože délka spermií a délka krčku bývaly spojovány s kompeticí spermií, protože delší spermie by se mohly pohybovat rychleji a díky relativně delšímu krčku by měly více energie (Lüpold *et al.* 2009b).

Na základě těchto výsledků jsem se rozhodla v dalších částech využívat k odhadnutí míry promiskuity jen koeficienty variance, a délku spermií a relativní délku krčku využít jen jako doplňkové analýzy.

5.2. Kloakální výčnělek a míra promiskuity

Kloakální výčnělek je u ptáků znám už mnoho let a již v 50. letech Wolfson (1952, 1954) rozpoznal jeho funkci a potenciální využití. Od té doby si však vysloužil jen velmi malou pozornost. Tento morfologický znak, podobně jako velikost varlat, může souviset s kompeticí spermií, jelikož představuje sklad spermií během rozmnožovací sezóny a jeho velikost odráží počet spermií připravených pro kopulace (Tuttle *et al.* 1996). U promiskuitních druhů je

frekvence kopulací vysoká, proto se předpokládá, že potřebují větší množství spermií. Dalo by se tedy očekávat jeho využití v odhadování míry promiskuity. Ta je místo toho často odhadována pomocí velikosti varlat, což nemusí být dobrý ukazatel, obzvláště u tropických druhů, u kterých není období rozmnožování vždy synchronizované, a jedinci téhož druhu ve stejnou dobu mohou, ale nemusí mít varlata plně zvětšená. Jejich velikost je ovšem možné zjistit až po zabíjení daného jedince. Zda je samec připravený se rozmnožovat lze z relativní velikosti kloakálního výčnělku poznat a navíc je možné údaje o velikosti výčnělku získat jednoduše a bez fyzické újmy samce. Navzdory tomu vztahu kloakálního výčnělku a kompetice spermií věnuje pozornost jen minimum prací a vztah k míře mimopárových paternit nebyl nikdy testován. Studie Birkhead *et al.* (1993) testuje tři hypotézy funkčního významu výčnělku – hypotézu efektivní kopulace, hypotézu velikosti spermií a hypotézu kompetice spermií. Poslední z nich, studií nejvíce podpořená, předpokládá, že kloakální výčnělek slouží ke skladování spermií a druhy s vyšší kompeticí spermií, a tudíž potřebou většího množství spermií, budou mít tento sklad spermií větší. Autoři zjistili pozitivní vztah mezi frekvencí kopulací a velikostí kloakálního výčnělku, měřenou jako výška výčnělku. Zároveň objevili větší kloakální výčnělek u polyandrických druhů oproti monogamním, ačkoliv tento vztah byl jen nevýznamný. V rámci monogamních druhů byly ale poměrně velké rozdíly ve výšce výčnělku, za což by mohla být zodpovědná rozdílná míra mimopárového rozmnožování, a tedy intenzita kompetice spermií. To však nebylo autory testováno, patrně i proto, že v době publikace jejich práce nebyly údaje o EPP k dispozici pro dostatečný počet druhů.

V mojí práci jsem předpoklad vztahu mezi relativní velikostí kloakálního výčnělku a kompeticí spermií zkoumala podrobněji. Použity byly dvě hodnoty velikosti výčnělku – relativní objem a výška. Na menší sadě 19 druhů byl prokázán pozitivní významný vztah mezi mírou promiskuity a relativní velikostí kloakálního výčnělku prostřednictvím míry mimopárové paternity. To ukazuje, že na druhy s vyšší mírou promiskuity působí selekce pro vznik relativně větších kloakálních výčnělků. Ovšem při srovnání nepřímých ukazatelů kompetice spermií EPP vysvětluje méně rozdílů v relativní velikosti výčnělku než koeficienty variance, což naznačuje, že tyto koeficienty by mohly být lepšími ukazateli kompetice spermií. Již Lifjeld *et al.* (2010) naznačili, že CV_{bm} by mohl být lepším dlouhodobějším znakem kompetice spermií nežli EPP. Míra EPP se může lišit v čase a místě. Navíc ne ze všech mimopárových kopulací musí nutně vzniknout potomci, například kvůli samičí kryptické volbě, a tudíž počet mimopárových potomků je nižší než by odpovídalo dané kompetici spermií.

Relativní velikost kloakálního výčnělku se také liší s délkou spermií, druhy s větším výčnělkem mají delší spermie. To může být vysvětleno dvěma způsoby. Delší spermie bývají spojovány s vyšší promiskuitou. V mé studii tento vztah nebyl významný, ale přesto byl zřetelný ($p = 0,054$). Spojení relativní velikosti výčnělku a délky spermií proto může také odrážet míru promiskuity. Druhou možností je logický předpoklad, že druhy s delšími spermii potřebují větší prostor na jejich uskladnění. Následná analýza ukázala, že relativní velikost kloakálního výčnělku souvisí spíše s promiskuitou než s délkou spermií, tudíž se přikláním k první možnosti.

Koeficient mezisamčí variability v délce spermií umožnil také odhadnout míru promiskuity u jednotlivých druhů z tropické a temperátní oblasti ($n = 61$), u kterých míra mimopárových paternit není známá. Ukázalo se, že i u této sady se koeficienty variance významně negativně mění, a to jak s relativním objemem, tak s relativní výškou kloakálního výčnělku, ačkoli vysvětlovali méně rozdílů než u menší sady temperátních druhů.

Výše uvedené výsledky ukázaly, že relativní velikost kloakálního výčnělku, měřená ať jako jeho výška nebo objem je dobrým indikátorem kompetice spermií, korelujícím s jejími ostatními ukazateli. Díky tomu a jejímu neinvazivnímu a jednoduchému měření by mohla být kvalitní alternativou k některým běžně užívaným metodám.

5.3. Znaký životních strategií a ekologie a míra promiskuity

Míra promiskuity je často spojována s životní strategií nebo ekologií daného druhu či populace, kdy některé jejich znaky mohou mimopárové rozmnožování podporovat či mu naopak bránit. Tyto znaky zřejmě nemusí působit samostatně a mohou mít rozdílný vliv na fylogenetických úrovních či mezi odlišnými oblastmi. Bylo dokázáno, že alespoň některé tyto znaky se liší se zeměpisnou šířkou nebo nadmořskou výškou, a tudíž by se dalo předpokládat, že pokud ji právě tyto znaky ovlivňují, bude se promiskuita také měnit podél daných gradientů. Latitudinální trend je všeobecně prozkoumanější, a to jak z hlediska znaků životní strategie a ekologie, tak i promiskuity, než trend altitudinální. Přesto je stále málo prací, které by poskytly plné pochopení tohoto fenoménu. Latitudinální změny byly například potvrzeny ve velikosti snůšky, kdy druhy v temperátní oblasti mají více vajec v rámci jednoho hnízdění než tropické druhy. A jsou předpokládány i v dalších znacích ekologie a životní strategie, jako jsou například hustota populace nebo rodičovská péče. V rámci samotné promiskuity byl tento trend zkoumán několika pracemi, které se lišily způsoby, jak odhadovaly promiskuitu druhů – od paternity přes relativní velikost varlat až po variabilitu v délce spermií. Jejich výsledky se

lišily. Část zjistila, že promiskuita je vyšší u temperátních druhů (Stutchbury a Morton 1995, Spottoswoode a Møller 2004), další studie ale žádný vztah nezjistily (Albrecht *et al.* 2013, Pitcher *et al.* 2005). Tato práce se svým výsledkem přiklání k druhé skupině, tedy že promiskuita se nemění se zeměpisnou délkou, a to ať byla promiskuita odhadnuta pomocí CV_{bm} či CV_{wm} . Změny s latitudou byly ovšem zjištěny u celkové délky spermií, kdy druhy v temperátní oblasti měly delší spermie než tropické než ty tropické. Toto zjištění by sice podporovalo latitudinální trend v míře promiskuity, ale podle mých předchozích a výše uvedených zjištění, délka spermií významně nekoreluje s odhadovanou mírou promiskuity. Žádná změna s latitudou se také neprokázala u relativní délky krčku spermií.

Altitudinální trend je z hlediska promiskuity záhadou. Zkoumán byl jen dvěma studiemi, které byly provedeny v temperátní oblasti. Jedna tento trend nepotvrdila (Balenger *et al.* 2009), druhá (Bonier *et al.* 2014) zjistila, že druhy ve vyšších nadmořských výškách mají nižší míru promiskuity, ovšem tento trend byl průkazný pouze ve vyšších latitudách, s klesající zeměpisnou šířkou jeho význam klesal. To podle Bonier *et al.* může být způsobeno například převahou potřeby rodičovské péče nad výhodami plynoucími z vyhledávání mimopárového rozmnožování v nižších zeměpisných šířkách. Tato práce neobjevila žádnou významnou změnu v míře promiskuity ve spojení s altitudou, ačkoliv CV_{wm} se nevýznamně zvyšovalo s rostoucí nadmořskou výškou. Na rozdíl od výše uvedených prací jsem zkoumala altitudinální trend v tropické oblasti, navíc na poměrně malém vzorku druhů, proto je problematické s nimi výsledek porovnávat. I zde byl však nalezen významný vztah mezi délkou spermií a nadmořskou výškou, kdy druhy ve vyšších výškách měly delší spermie. Altitudinální gradient zatím v rámci ptačích druhů nebyl zkoumán a je těžké ho vysvětlit vzhledem k nedostatku informací o znacích životní strategie či ekologie v různých nadmořských výškách, a to obzvláště v tropické oblasti. Relativní délka krčku spermií se ani s tímto geografickým trendem neměnila.

Vliv jednotlivých znaků životních strategií a ekologie na míru promiskuity získal v různých studiích odlišnou podporu. V této práci byly hodnoceny tři ekologické znaky druhu – hustota populace, rozsah obývaných nadmořských výšek a migrace, a dva parametry životní strategie – velikost snůšky a hmotnost těla, které společně vypovídají o typu životní strategie, tedy zda má daný druh spíše pomalou či rychlou životní strategii. Kvůli omezenému množství dostupných informací o jednotlivých druzích byly tyto znaky analyzovány na různě velkých datových sadách, avšak ani jeden z těchto znaků významně neovlivňoval míru promiskuity odhadnutou jako CV_{bm} ani jako CV_{wm} .

Ekologické parametry byly testovány v rámci tropické hory Mt. Cameroon, ze které jsou dostupná podrobná ekologická data (hustota populace, rozsah obývaných altitud; Ferenc *et al.* 2016). Očekávala jsem, že hustota populace by mohla ovlivňovat míru promiskuity, protože při vyšších populačních hustotách mají jedinci větší šanci najít vhodného mimopárového partnera. Tento předpoklad se však nenaplnil a odhadovaná míra promiskuity se nelišila s hustotou populace ani s rozsahem obývaných nadmořských výšek. Ekologické faktory ovlivňující míru promiskuity získaly již dříve smíšenou podporu a zdá se, že jejich vliv se projevuje spíše mezi blízkce příbuznými druhy a poddruhy, což může vysvětlovat, proč zde, mezi tropickými druhy z různých skupin pěvců, nebyl tento vztah patrný. Analýza také mohla být ovlivněna malým vzorkem, protože CV a ekologická data byly dostupné jen pro 25 druhů obývajících horu Mt. Cameroon.

O migraci se tvrdí (Spottiswoode a Møller 2004), že by mohla být hlavním vlivem vytvářejícím latitudinální trend v míře promiskuity u ptáků. Obzvláště u druhů migrujících na dlouhé vzdálenosti způsobuje vysokou synchronizaci rozmnožování, která umožňuje výběr kvalitního partnera. A existují další způsoby, kterými by migrace mohla ovlivnit míru promiskuity. Pokud bych zjistila latitudinální trend v míře promiskuity, očekávání významného vlivu migrace by bylo samozřejmostí. Ovšem zde se latitudinální trend neprokázal, proto nebylo až tak překvapivé zjištění chybějícího vztahu, ať už lineárního nebo polynomického, mezi migrační vzdáleností a odhadovanou mírou promiskuity. K podobnému závěru došli nedávno i Albrecht *et al.* (2013), kteří také neobjevili významný vztah mezi migrací a CV_{bm} v rámci temperátních a tropických druhů ani pouze u temperátních druhů. Ve svých analýzách jsem se rozhodla použít pouze temperátní druhy přesto, že to značně sníží celkový počet druhů ($n = 26$), jelikož tato práce zahrnuje většinu druhů z tropické oblasti. Tropické druhy jsou ale obvykle residentní nebo migrují jen na krátké vzdálenosti a přesto u nich míra promiskuity dosahuje podobných hodnot jako u temperátních ptáků, proto předpokládám, že migrační vzdálenost by u nich měla mít menší vliv než u druhů z temperátní oblasti. Jelikož délka spermií bývá spojována s odhadovanou mírou promiskuity (ačkoliv zde se tento vztah neukázal jako významný) a vykazuje latitudinální trend, rozhodla jsem se vyzkoušet zde i spojení mezi délkou spermií a migrační vzdáleností. Ovšem ani tento vztah se neukázal jako významný.

Informace o znacích životních strategií, které jsem použila, byly dostupné pro všechny tropické i temperátní druhy, proto zde bylo možné použít maximální počet druhů ($n = 65$), pro které jsem vypočítala CV_{bm} . Ovšem ani velikost snůšky, ani velikost těla významně neovlivňovaly odhadovanou míru promiskuity. Nevýznamný vztah byl obzvláště překvapivý

v případě velikosti snůšky, protože Albrecht *et al.* (2013) zjistili, že velikost snůšky tropických ptáků významně ovlivňuje míru promiskuity, taktéž odhadnutou na základě CV_{bm} , a za použití některých tropických druhů, které jsem využívala ve své práci. Avšak tento vztah neprokázali mezi CV_{bm} a velikostí snůšky celkově ani mezi CV_{bm} velikostí snůšky temperátních druhů. V mé práci také nebylo zjištěno spojení velikosti snůšky a míry promiskuity, zároveň ale tento vztah nebyl prokázán ani mezi velikostí snůšek v rámci jednotlivých oblastí. Velikost těla bývá považována za poměrně kvalitní ukazatel délky dožití u pěvců (Lindstedt a Calder 1976). Dále žijící, větší druhy častěji udržují dlouhodobější svazky a mívají nižší investice do jednotlivých snůšek, protože se očekává, že zažijí mnoho dalších rozmnožovacích sezón. Tyto druhy by měly mít nižší míru promiskuity, protože je zde vysoké riziko, že je jejich partner opustí, pokud nebude mít jistotu paternity. Krátce žijící druhy si opuštění aktuální snůšky nemohou dovolit, protože nemají jistotu, zda se dožijí dalšího rozmnožování. V této práci se ani průměrná hmotnost druhu neukázala jako významný faktor ovlivňující odhadovanou míru promiskuity. A společně s velikostí snůšky (představující investice do aktuální snůšky), jakožto základní parametry rozděluje životní strategie na pomalé a rychlé, ukázaly, že míra promiskuity druhů s pomalými životními strategiemi se významně neliší od té u druhů s rychlou životní strategií.

Tato práce nezjistila ovlivnění míry promiskuity parametry ekologie nebo životních strategií. Ovšem ekologie a životní strategie se skládají z mnoha dalších znaků, které mohou potenciálně tento vztah ovlivnit, z nichž některé již byly v jiných pracích zkoumány, ale další zůstávají stále neobjevené. V budoucnu by bylo přínosné otestovat i další takové parametry v rámci tropických druhů či druhů z jižní polokoule, protože studií v těchto oblastech je stále velký nedostatek, navzdory jejich odlišné biologii.

6. Závěr

V této práci jsem zkoumala znaky spermií a odhadovanou míru promiskuity u pěvců (Passeriformes) z tropické a temperátní oblasti, jejich změny podél latitudinálního a altitudinálního gradientu a ovlivnění vybranými znaky životní strategie a ekologie. Ukazují také vztah mezi velikostí kloakálního výčnělku a míry promiskuity, který byl dodnes přehlížen.

1. Stejně jako předchozí práce představují koeficient mezisamčí (CV_{bm}) i vnitrosamčí (CV_{wm}) variability v délce spermií jako kvalitní ukazatel odhadované míry promiskuity. Ani jeden z těchto koeficientů nebyl ovlivněn fylogenetickou příbuzností.
2. Relativní velikost kloakálního výčnělku (objem a ještě lépe výška) významně pozitivně koreluje s mírou promiskuity odhadnutou prostřednictvím CV_{bm} , CV_{wm} i mírou mimopárové paternity (EPP). Může tedy představovat alternativní metodu k určení míry promiskuity, která je jednoduše proveditelná a neinvazivní. CV_{bm} je korelováno s velikostí kloakálního výčnělku lépe nežli EPP, což může naznačovat, že tento znak je lepším prediktorem kompetice spermií nežli samotná míra EPP.
3. Navzdory rozlišným ekologiím a životním strategiím v různých zeměpisných šířkách a nadmořských výškách se odhadovaná míra promiskuity s latitudou ani altitudou neliší. S těmito gradienty se ovšem mění délka spermií, kdy delší spermie mají druhy žijící v temperátní oblasti nebo v nižších výškách v rámci tropické hory Mt. Cameroon. Zde zkoumané znaky ekologie a životní strategie – hustota populace, rozsah obývaných nadmořských výšek, migrace, velikost snůšky a hmotnost těla – míru promiskuity odhadnutou prostřednictvím CV_{bm} ani CV_{wm} neovlivňovaly.

7. Seznam literatury

- Albrecht, T. et al.** (2006). The strength of direct selection against female promiscuity is associated with rates of extrapair fertilizations in socially monogamous songbirds. *American Naturalist*, 167(5), 739–744.
- Albrecht, T. et al.** (2013). Sperm competition in tropical versus temperate zone birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 280(1752), 20122434.
- Albrecht, T. et al.** (2019). Sperm divergence in passerine contact zone: Indication of reinforcement at the gametic level. *Evolution*, 73(2), 2002–213.
- Arnold, K. E., & Owens, I. P. F.** (2002). Extra-pair paternity and egg dumping in birds: life history, parental care and the risk of retaliation. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 269(1497), 1263–1269.
- Arnqvist, G., & Kirkpatrick, M.** (2005). The evolution of infidelity in socially monogamous passerines: The strength of direct and indirect selection on extrapair copulation behavior in females. *American Naturalist*, 165(5), S26–S37.
- Badyaev, A. V.** (1997). Altitudinal variation in sexual dimorphism: a new pattern and alternative hypotheses. *Behavioral Ecology*, 8(6), 675–690.
- Badyaev, A. V., & Ghalambor, C. K.** (2001). Evolution of life histories along elevational gradients: Trade-off between parental care and fecundity. *Ecology*, 82(10), 2948–2960.
- Baer, B. et al.** (2003). Sperm length, sperm storage and mating system characteristics in bumblebees. *Insectes Sociaux*, 50(2), 101–108.
- Balenger, S. L. et al.** (2009). Extra-pair paternity in the socially monogamous mountain bluebird *Sialia currucoides* and its effect on the potential for sexual selection. *Journal of Avian Biology*, 40(2), 173–180.
- Bastianelli, G. et al.** (2017). Surviving at high elevations: an inter- and intra-specific analysis in a mountain bird community. *Oecologia*, 184(2), 293–303.
- Bateman, A.** (1948). Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity*, 2(3), 349–368.
- Bears, H. et al.** (2009). Breeding in high-elevation habitat results in shift to slower life-history strategy within a single species. *Journal of Animal Ecology*, 78(2), 365–375.
- Bennison, C. et al.** (2015). Long sperm fertilize more eggs in a bird. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1799)
- Birkhead, T. R.** (1998). Cryptic female choice: Criteria for establishing female sperm choice. *Evolution*, 52(4), 1212–1218.

- Birkhead, T. R.** (2000). *Promiscuity: an evolutionary history of sperm competition*. Harvard University Press.
- Birkhead, T. R.** (2010). How stupid not to have thought of that: post-copulatory sexual selection. *Journal of Zoology*, 281(2), 78–93.
- Birkhead, T. R. et al.** (1993). Selection and utilization of spermatozoa in the reproductive-tract of the female zebra finch *Taeniopygia Guttata*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 99(2), 593–600.
- Birkhead, T. R. et al.** (2005). Genetic effects on sperm design in the zebra finch. *Nature*, 434(7031), 383–387.
- Birkhead, T. R. et al.** (2006). Unusual sperm morphology in the eurasian bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*). *Auk*, 123(2), 383–392.
- Birkhead, T. R., & Biggins, J. D.** (1987). Reproductive synchrony and extra-pair copulation in birds. *Ethology*, 74(4), 320–334.
- Birkhead, T. R., & Immler, S.** (2007). Making sperm: design, quality control and sperm competition. *Society of Reproduction and Fertility supplement*, 65, 175.
- Birkhead, T. R., & Møller, A. P.** (1992). *Sperm competition in birds. Evolutionary causes and consequences*. ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA (USA).
- Birkhead, T. R., & Møller, A. P.** (Eds.). (1998). *Sperm competition and sexual selection*. Elsevier.
- Birkhead, T. R., & Pizzari, T.** (2002). Postcopulatory sexual selection. *Nature Reviews Genetics*, 3(4), 262–273.
- Bjork, A., & Pitnick, S.** (2006). Intensity of sexual selection along the anisogamy-isogamy continuum. *Nature*, 441(7094), 742–745.
- Blake, J. G., & Loiselle, B. A.** (2008). Estimates of apparent survival rates for forest birds in eastern Ecuador. *Biotropica*, 40(4), 485–493.
- Bonier, F. et al.** (2014). Extrapair paternity rates vary with latitude and elevation in emberizid sparrows. *American Naturalist*, 183(1), 54–61.
- Boyle, W. A. et al.** (2016). Patterns and drivers of intraspecific variation in avian life history along elevational gradients: a meta-analysis. *Biological Reviews*, 91(2), 469–482.
- Brenan, G.** (1978). *Thoughts in a Dry Season: A Miscellany*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Briskie, J., & Montgomerie, R.** (1992). Sperm size and sperm competition in birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 247(1319), 89–95.

- Briskie, J., & Montgomerie, R.** (1993). Patterns of sperm storage in relation to sperm competition in passerine birds. *Condor*, 95(2), 442–454.
- Calhim, S., & Birkhead, T. R.** (2007). Testes size in birds: quality versus quantity - assumptions, errors, and estimates. *Behavioral Ecology*, 18(1), 271–275.
- Calhim, S. et al.** (2007). Postcopulatory sexual selection is associated with reduced variation in sperm morphology. *Plos One*, 2(5), e413.
- Calhim, S., & Montgomerie, R.** (2015). Testis asymmetry in birds: the influences of sexual and natural selection. *Journal of Avian Biology*, 46(2), 175–185.
- Cezilly, F., & Nager, R.** (1995). Comparative evidence for a positive association between divorce and extra-pair paternity in birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 262(1363), 7–12.
- Crowe, S. A. et al.** (2009). Paternity assurance through frequent copulations in a wild passerine with intense sperm competition. *Animal Behaviour*, 77(1), 183–187.
- Eberhard, W. G.** (1994). Evidence for widespread courtship during copulation in 131 species of insects and spiders, and implications for cryptic female choice. *Evolution*, 48(3), 711–733.
- Eberhard, W. G.** (1996). *Female control: sexual selection by cryptic female choice*. Princeton University Press.
- Ferenc, M. et al.** (2016). Abundance-area relationships in bird assemblages along an Afrotropical elevational gradient: space limitation in montane forest selects for higher population densities. *Oecologia*, 181(1), 225–233.
- Fitzpatrick, S.** (1994). Colorful migratory birds - Evidence for a mechanism other than parasite resistance for the maintenance of good genes sexual selection. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 257(1349), 155–160.
- Freckleton, R. P., Harvey, P. H., & Pagel, M.** (2002). Phylogenetic analysis and comparative data: a test and review of evidence. *The American Naturalist*, 160(6), 712–726.
- Gage, M. J. et al.** (2006). Reduced heterozygosity depresses sperm quality in wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *Current Biology*, 16(6), 612–617.
- Griffith, S. C. et al.** (2002). Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology*, 11(11), 2195–2212.
- Hemmings, N., & Birkhead, T. R.** (2017). Differential sperm storage by female zebra finches *Taeniopygia guttata*. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1860)

- Hille, S. M., & Cooper, C. B.** (2015). Elevational trends in life histories: revising the pace-of-life framework. *Biological Reviews*, 90(1), 204–213.
- Hogner, S. et al.** (2013). Rapid sperm evolution in the bluethroat (*Luscinia svecica*) subspecies complex. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67(8), 1205–1217.
- Humphreys, P. N.** (1972). Brief observations on the semen and spermatozoa of certain passerine and non-passerine birds. *Journal of Reproduction and Fertility*, 29(3), 327–336.
- Chapman, T.** (2001). Seminal fluid-mediated fitness traits in *Drosophila*. *Heredity*, 87, 511–521.
- Immler, S., & Birkhead, T. R.** (2007). Sperm competition and sperm midpiece size: no consistent pattern in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274(1609), 561–568.
- Immler, S. et al.** (2008). Increased postcopulatory sexual selection reduces the intramale variation in sperm design. *Evolution*, 62(6), 1538–1543.
- Immler, S. et al.** (2011). Resolving variation in the reproductive tradeoff between sperm size and number. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(13), 5325–5330.
- Jamieson, B. G.** (1987). *The ultrastructure and phylogeny of insect spermatozoa*. CUP Archive.
- Janoušek, V. et al.** (2018). Postcopulatory sexual selection reduces Z-linked genetic variation and might contribute to the large Z effect in passerine birds. *Heredity*, 1.
- Jetz, W. et al.** (2008). The worldwide variation in avian clutch size across species and space. *PLoS biology*, 6(12), e303.
- Kempnaers, B. et al.** (1997). Extrapair paternity in the blue tit (*Parus caeruleus*): female choice, male characteristics, and offspring quality. *Behavioral Ecology*, 8(5), 481–492.
- Kempnaers, B. et al.** (1999). Extrapair paternity and egg hatchability in tree swallows: evidence for the genetic compatibility hypothesis? *Behavioral Ecology*, 10(3), 304–311.
- Kleven, O. et al.** (2008). Intraspecific variation in sperm length is negatively related to sperm competition in passerine birds. *Evolution*, 62(2), 494–499.
- Lack D.** (1968) *Ecological Adaptations for Breeding in Birds*. Methuen Ltd, London.
- Laskemoen, T. et al.** (2008). Age-related variation in primary sexual characters in a passerine with male age-related fertilization success, the bluethroat *Luscinia svecica*. *Journal of Avian Biology*, 39(3), 322–328.

- Laskemoen, T. *et al.*** (2013). Variation in sperm morphometry and sperm competition among barn swallow (*Hirundo rustica*) populations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67(2), 301–309.
- Lifjeld, J. T. *et al.*** (2010). Sperm length variation as a predictor of extrapair paternity in passerine birds. *Plos One*, 5(10), e13456.
- Lifjeld, J. T. *et al.*** (2013). The Azores bullfinch (*Pyrrhula murina*) has the same unusual and size-variable sperm morphology as the Eurasian bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 108(3), 677–687.
- Lindstedt, S., & Calder, W.** (1976). Body size and longevity in birds. *Condor*, 78(1), 91–94.
- Lüpold, S. *et al.*** (2009a). Sperm competition selects beyond relative testes size in birds. *Evolution*, 63(2), 391–402.
- Lüpold, S. *et al.*** (2009b). Sperm morphology and sperm velocity in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 276(1659), 1175–1181.
- Macedo, R. H. *et al.*** (2008). Extrapair paternity and sexual selection in socially monogamous birds: Are tropical birds different? *Auk*, 125(4), 769–777.
- Magrath, M. J. L., & Komdeur, J.** (2003). Is male care compromised by additional mating opportunity? *Trends in Ecology & Evolution*, 18(8), 424–430.
- Martin, T. E. *et al.*** (2000). Parental care and clutch sizes in North and South American birds. *Science*, 287(5457), 1482–1485.
- Martin, T. E.** (2004). Avian life-history evolution has an eminent past: Does it have a bright future? *Auk*, 121(2), 289–301.
- Matysioková, B., & Remeš, V.** (2013). Faithful females receive more help: the extent of male parental care during incubation in relation to extra-pair paternity in songbirds. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(1), 155–162.
- Mauck, R. A. *et al.*** (1999). Adult survival and imperfect assessment of parentage: Effects on male parenting decisions. *American Naturalist*, 154(1), 99–109.
- Mayer, C., & Pasinelli, G.** (2013). New support for an old hypothesis: density affects extra-pair paternity. *Ecology and Evolution*, 3(3), 694–705.
- McGregor, R. *et al.*** (2007). Survival rates of tropical birds in Nigeria, West Africa. *Ibis*, 149(3), 615–618.
- Miller, G. T., & Pitnick, S.** (2002). Sperm-female coevolution in *Drosophila*. *Science*, 298(5596), 1230–1233.
- Møller, A. P.** (1991). Sperm competition, sperm depletion, paternal care, and relative testis size in birds. *The American Naturalist*, 137(6), 882–906.

- Møller, A. P., & Birkhead, T. R.** (1993). Cuckoldry and sociality - a comparative-study of birds. *American Naturalist*, 142(1), 118–140.
- Møller, A. P., & Cuervo, J. J.** (2000). The evolution of paternity and paternal care in birds. *Behavioral Ecology*, 11(5), 472–485.
- Møller, A. P., & Ninni, P.** (1998). Sperm competition and sexual selection: a meta-analysis of paternity studies of birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 43(6), 345–358.
- Mulder, R. et al.** (1994). Helpers liberate female fairy-wrens from constraints on extra-pair mate choice. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 255(1344), 223–229.
- Niklison, A. M. et al.** (2008). Natural history and breeding biology of the rusty-breasted antpitta (*Grallarica ferruginepectus*). *Wilson Journal of Ornithology*, 120(2), 345–352.
- Parker, G. A.** (1970). Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological Reviews*, 45(4), 525–567.
- Parker, G. A.** (1979). Sexual selection and sexual conflict. *Sexual selection and reproductive competition in insects*, 123, 166.
- Parker, G. A.** (1990). Sperm competition games - sneaks and extra-pair copulations. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 242(1304), 127–133.
- Parker, G. A.** (1993). Sperm competition games - sperm size and sperm number under adult control. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 253(1338), 245–254.
- Parker, G., & Begon, M.** (1993). Sperm competition games - sperm size and number under Gametic Control. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 253(1338), 255–262.
- Peach, W. J. et al.** (2001). Do southern African songbirds live longer than their European counterparts? *Oikos*, 93(2), 235–249.
- Peer, K. et al.** (2000). Reproductive anatomy and indices of quality in male tree swallows: The potential reproductive role of floaters. *Auk*, 117(1), 74–81.
- Petrie, M. et al.** (1998). The degree of extra-pair paternity increases with genetic variability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(16), 9390–9395.
- Pitcher, T. E. et al.** (2005). Sperm competition and the evolution of testes size in birds. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(3), 557–567.
- Pitnick, S.** (1996). Investment in testes and the cost of making long sperm in *Drosophila*. *American Naturalist*, 148(1), 57–80.
- Pitnick, S. et al.** (2009). Sperm morphological diversity. *Sperm biology*, 69–149.

- Reddy, S.** (2014). What's missing from avian global diversification analyses? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 77, 159–165.
- Ricklefs, R. E.** (2000). Density dependence, evolutionary optimization, and the diversification of avian life histories. *Condor*, 102(1), 9–22.
- Ricklefs, R. E., & Wikelski, M.** (2002). The physiology/life-history nexus. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(10), 462–468.
- Robinson, W. D. et al.** (2000). Forest bird community structure in central Panama: Influence of spatial scale and biogeography. *Ecological Monographs*, 70(2), 209–235.
- Rowe, M. et al.** (2013). Evolution of sperm structure and energetics in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 280(1753), 20122616.
- Rowe, M. et al.** (2015). Postcopulatory sexual selection is associated with accelerated evolution of sperm morphology. *Evolution*, 69(4), 1044–1052.
- Rowe, M., & Pruett-Jones, S.** (2006). Reproductive biology and sperm competition in australian fairy-wrens. *Avian and Poultry Biology Reviews*, 17(1), 21–37.
- Russell, L. D. et al.** (1990). A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. *American Journal of Anatomy*, 188(1), 21–30.
- Sax, A., & Hoi, H.** (1998). Individual and temporal variation in cloacal protuberance size of male bearded tits (*Panurus biarmicus*). *Auk*, 115(4), 964–969.
- Snook, R. R.** (2005). Sperm in competition: not playing by the numbers. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(1), 46–53.
- Sokal, R. R. & Rohlf F. J.** (1981). *Biometry. 2nd Edition. WH Freeman and Company, New York.*
- Spottiswoode, C., & Møller, A. P.** (2004). Extrapair paternity, migration, and breeding synchrony in birds. *Behavioral Ecology*, 15(1), 41–57.
- Steele, M., & Wishart, G.** (1992). Evidence for a species-specific barrier to sperm transport within the vagina of the chicken hen. *Theriogenology*, 38(6), 1107–1114.
- Stewart, S. L. M. et al.** (2010). Extra-pair paternity in eastern bluebirds: effects of manipulated density and natural patterns of breeding synchrony. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64(3), 463–473.
- Stutchbury, B. J. M. et al.** (2007). Comparison of the mating systems and breeding behavior of a resident and a migratory tropical flycatcher. *Journal of Field Ornithology*, 78(1), 40–49.

- Stutchbury, B., & Morton, E.** (1995). The effect of breeding synchrony on extra-pair mating systems in songbirds. *Behaviour*, 132, 675–690.
- Stutchbury, B. J., & Morton, E. S.** (2001). *Behavioral ecology of tropical birds*. Academic Press.
- Tarwater, C. E. et al.** (2013). Low Extrapair Paternity Observed in a Tropical Bird Despite Ample Opportunities for Extrapair Mating. *Auk*, 130(4), 733–741.
- Tazzyman, S. J. et al.** (2009). The Evolution of Continuous Variation in Ejaculate Expenditure Strategy. *American Naturalist*, 174(3), E71–E82.
- Terborgh, J. et al.** (1990). Structure and organization of an Amazonian forest bird community. *Ecological Monographs*, 60(2), 213–238.
- Thornhill, R.** (1983). Cryptic Female Choice and Its Implications in the Scorpionfly *Harpobittacus-Nigriceps*. *American Naturalist*, 122(6), 765–788.
- Tuttle, E. M., & Pruett-Jones, S.** (2004). Estimates of extreme sperm production: morphological and experimental evidence from reproductively promiscuous fairy-wrens (*Malurus*). *Animal Behaviour*, 68, 541–550.
- Tuttle, E. M. et al.** (1996). Cloacal protuberances and extreme sperm production in Australian fairy-wrens. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 263(1375), 1359–1364.
- Weatherhead, P. J.** (1997). Breeding synchrony and extra-pair mating in red-winged blackbirds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40(3), 151–158.
- Weatherhead, P. J., & Yezerinac, S. M.** (1998). Breeding synchrony and extra-pair mating in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 43(3), 217–219.
- Westneat, D. F., & Sherman, P. W.** (1997). Density and extra-pair fertilizations in birds: a comparative analysis. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41(4), 205–215.
- Wiersma, P. et al.** (2007). Tropical birds have a slow pace of life. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(22), 9340–9345.
- Wolfson, A.** (1952). The cloacal protuberance: a means for determining breeding condition in live male passerines. *Bird-banding*, 23(4), 159–165.
- Wolfson, A.** (1954). Sperm storage at lower-than-body temperature outside the body cavity in some passerine birds. *Science*, 120(3106), 68–71.
- Wink, M., & Dyrce, A.** (1999). Mating systems in birds: a review of molecular studies. *Muzeum i Instytut Zoologii PAN*.

8. Přílohy

Příloha 1: Skript k PGLS analýzám v programu R.

```
> library(ape)
> setwd("C:/Users/zuza/Documents/R delka spermii")
> source("pglm3.r")
> library(mvtnorm)
> library(MASS)
> tab<-read.delim("c:/Users/zuza/Documents/analyzy2/znaky spermii/tab-temp.
txt")
> attach(tab)
> tree<-read.tree(text="((((Acrocephalus_palustris:26.123830211000016,(Acr
ocephalus_schoenobaenus:9.574913508999993,Acrocephalus_scirpaceus:9.5749134
93999992):16.54891674500002):2.9677617879999474,Sylvia_atricapilla:29.09159
2035999962):4.244413596000022,(Delichon_urbicum:16.061961082999986,Hirundo_
rustica:16.061961108999988):17.274044542):8.844785315000038,(Parus_ater:16.
266874609999995,Parus_major:16.266874616999996):25.91391635400003):2.378796
8729999704,((((Carpodacus_erythrinus:26.083957243000036,Fringilla_coelebs:2
6.083957220000038):1.3489496609999598,(Emberiza_citrinella:13.0555426899999
9,Emberiza_schoeniclus:13.055542708999999):14.377364185000006):4.34031079600
0008,(Passer_domesticus:7.003033799000006,Passer_montanus:7.003033792000006
):24.770183955999997):11.88729175299994,((Cinclus_cinclus:28.68459605300001
4,((Erithacus_rubecula:16.70915164999998,Phoenicurus_ochruros:16.7091515809
9998):9.370452778000011,Turdus_merula:26.079604389999993):2.604991641000023
):10.159150532999945,Troglodytes_troglodytes:38.84374668999996):4.816762834
9999845):0.8990784040000506);")
> plot(tree)
> rownames(tab)<-tree$tip.label
> tab1<-tab[tree$tip.label,]
> all(species%in%rownames(tab1))
[1] TRUE
> tree<-read.nexus("C:/Users/zuza/Documents/analyzy2/znaky spermii/tree-tem
p-nexus.nex")
> tree<-vcv.phylo(tree)
> lambda<-pglmEstLambda(EPP~CVbm,phylo=tree,data=tab1)
> summary(lambda)
```

Příloha 2: Kód fylogenetického stromu pro 19 temperátních druhů ve formátu Newick.

```
(((((Acrocephalus_palustris:26.123830211000016,(Acrocephalus_schoenobaenus:9.57491350
8999993,Acrocephalus_scirpaceus:9.574913493999992):16.54891674500002):2.9677617879
999474,Sylvia_atricapilla:29.091592035999962):4.244413596000022,(Delichon_urbicum:16
.061961082999986,Hirundo_rustica:16.061961108999988):17.274044542):8.8447853150000
38,(Parus_ater:16.266874609999995,Parus_major:16.266874616999996):25.9139163540000
3):2.3787968729999704,((((Carpodacus_erythrinus:26.083957243000036,Fringilla_coelebs:2
6.083957220000038):1.3489496609999598,(Emberiza_citrinella:13.055542689999999,Emberi
za_schoeniclus:13.055542708999999):14.377364185000006):4.340310796000008,(Passer_do
mesticus:7.003033799000006,Passer_montanus:7.003033792000006):24.770183955999997):
11.88729175299994,((Cinclus_cinclus:28.684596053000014,((Erithacus_rubecula:16.709151
```

64999998,Phoenicurus_ochruros:16.70915158099998):9.370452778000011,Turdus_merula:2
6.079604389999993):2.604991641000023):10.159150532999945,Troglodytes_troglodytes:3
8.843746689999996):4.8167628349999845):0.8990784040000506);

Příloha 3: Kód fylogenetického stromu pro 61 temperátních a tropických druhů ve formátu Newick.

(((((Acrocephalus_schoenobaenus:17.552577029000012,(Acrocephalus_scirpaceus:5.48027
5229000001,Acrocephalus_palustris:5.480275220000001):12.07230177900001):8.85009451
8000013,(Bradypterus_bangwaensis:9.659188930999996,Bradypterus_lopezi:9.65918892899
9995):16.74348259900003):5.960768861999945,(((Apalis_cinerea:15.200233821000019,Ca
maroptera_chloronota:15.20023380300002):3.586937614999991,((Apalis_pulchra:11.905992
079000013,Urolais_epichlorus:11.905992096000013):6.23221695599999,Poliolais_lopezi:18
.138209046000004):0.6489623340000072):9.140423603000006,(((Illadopsis_cleaveri:8.420
180708,Illadopsis_rufipennis:8.420180722000001):9.420241907000012,Zosterops_senegalensis:
17.840422656000012):3.4022999570000216,(Pseudoalcippe_abyssinica:11.03683500299
9965,Sylvia_atricapilla:11.036835018999964):10.20588753700007):6.684872438999982):2.
9608548299999455):1.470150457999992,(((Andropadus_montanus:13.49822383800001,An
dropadus_tephrolaemus:13.49822385100001):6.064402686999982,Bleda_notatus:19.562626
47699999):1.149170064999982,(Phyllastrephus_icterinus:7.040402428000005,Phyllastrephu
s_xavieri:7.040402397000005):13.671394178999968):11.64680371799998):1.083990323000
0374,((Delichon_urbicum:16.163114886000002,Hirundo_rustica:16.163114881000002):14.3
79846408999963,Phylloscopus_collybita:30.542961293999966):2.8996293500000263):8.85
645570000004,(Elminia_albiventris:40.647156768,(Parus_ater:16.203459552000016,Parus_
major:16.20345954300002):24.44369720199998):1.6518896020000327):2.33647845299991
27,((((Alethe_poliiocephala:16.547973448,Cossypha_isabellae:16.547973457999998):1.846
1008969999781,((Erithacus_rubecula:16.754847703000001,Phoenicurus_ochruros:16.754847
70200001):1.3546070950000022,Muscicapa_adusta:18.109454803000013):0.284619556999
96366):7.722709837000046,((Turdus_merula:10.039778493,Turdus_pelios:10.039778471):3.
5675902399999817,Turdus_philomelos:13.607368679999983):12.509415446000041):2.5378
92722000006,Cinclus_cinclus:28.65467686000003):10.20926344399998,(Certhia_familiaris:
29.15928642000001,Troglodytes_troglodytes:29.15928638600001):9.704653959999998):4.8
601410999999715,((((((((Carduelis_carduelis:7.562000652999999,Linurgus_olivaceus:7.56
2000638):3.835538392000018,Carduelis_chloris:11.397539001000018):6.317498565999992
,Carpodacus_erythrinus:17.71503753300001):2.7836145049999814,Coccothraustes_coccothr
austes:20.49865202699999):5.506786159000018,Fringilla_coelebs:26.00543826400001):1.4

096411049999844,(Emberiza_citrinella:13.06377893899999,Emberiza_schoeniclus:13.06377895499999):14.351300355000003):4.363302164000018,(Passer_domesticus:7.05314697400001,Passer_montanus:7.053146960000011):24.725234547):3.8599382030000022,(((Cryptospiza_reichenovii:9.114594189999986,(Estrilda_nonnula:8.453183678999999,Nesocharis_sheleyi:8.453183701999999):0.6614105219999864):2.9317443400000283,Spermophaga_haematina:12.046338511000013):9.69196886199997,((Euplectes_ardens:4.853404193999997,Euplectes_capensis:4.853404198999996):6.972724894000006,(Ploceus_bannermani:8.953268526999995,Ploceus_melanogaster:8.953268476999996):2.8728605830000067):9.91217834599998):10.915831148999981,Prunella_modularis:32.654138536999966):2.9841810860000493):3.788735602999985,((Nectarinia_bouvieri:16.24672606,(Nectarinia_olivacea:11.159026065000004,Nectarinia_oritis:11.159026054000005):5.087700042999995):2.283673872000012,Nectarinia_preussi:18.53039999600001):20.896655284999987):4.297026134999982):0.9114433579999641):5.886645095000041,Terpisiphone_rufiventer:50.52217002399998);

Příloha 4: Kód fylogenetického stromu pro 65 temperátních a tropických druhů ve formátu Newick.

((((((((Acrocephalus_schoenobaenus:17.552577029000012,(Acrocephalus_scirpaceus:5.480275229000001,Acrocephalus_palustris:5.480275220000001):12.07230177900001):8.850094518000013,(Bradypterus_bangwaensis:9.659188930999996,Bradypterus_lopezi:9.659188928999995):16.74348259900003):5.960768861999945,(((Andropadus_montanus:13.48676284600001,Andropadus_tephrolaemus:13.486762853000009):6.054639321999991,Bleda_notatus:19.541402183):1.140927963999971,(Phyllastrephus_icterinus:7.032256000000003,Phyllastrephus_xavieri:7.032256012000003):13.650074107999968):10.180079128000045,((Apalis_cinerea:15.151619322999974,Camaroptera_chloronota:15.151619282999974):3.616060770000013,((Apalis_pulchra:11.834141147999986,Urolais_epichlorus:11.834141150999987):6.2048207279999925,Poliolais_lopezi:18.03896186399998):0.7287181890000092):9.047777623000048,(((Illadopsis_cleaveri:8.300174539,Illadopsis_rufipennis:8.300174527):9.28969942099998,Zosterops_senegalensis:17.58987392699998):3.4063604929999975,(Pseudoalcippe_abyssinica:10.897826308999974,Sylvia_atricapilla:10.897826287999974):10.098408136000003):6.819223225000059):3.0469515829999807):1.5010311469999529):1.0919016390000422,((Delichon_urbicum:16.113005112000007,Hirundo_rustica:16.113005161000007):14.417636723000008,Phylloscopus_collybita:30.530641807000016):2.9247002849999966):8.826871407000013,(Elminia_albiventris:40.714280474999995,(Parus_ater:16.245285926999994,Parus

_major:16.245285872999993):24.468994516000002):1.5679330010000285):2.35041829199
 99934,((((((Alethe_poliocephala:16.346111827000016,Cossypha_isabellae:16.346111889000
 017):1.8164215499999798,((Erithacus_rubecula:16.573779483000013,Phoenicurus_ochruros
 :16.573779479000013):1.3043347439999664,Muscicapa_adusta:17.87811433399998):0.284
 41914700001547):7.654450123000011,((Turdus_merula:9.911904532999994,Turdus_pelios:
 9.911904511999994):3.5564153440000084,Turdus_philomelos:13.468319840000003):12.34
 8663632000004):2.5731026240000396,Cinclus_cinclus:28.390086116000045):10.45926515
 9999926,(Certhia_familiaris:29.12457205900003,Troglodytes_troglodytes:29.124572015000
 03):9.72477929399994):4.8742530060000075,((((((((Carduelis_carduelis:7.61212174700000
 1,Linurgus_olivaceus:7.6121217350000006):1.5535006670000024,(Crithagra_burtoni:7.863
 33354000007,Crithagra_mozambicus:7.8633335630000065):1.3022888489999964):2.2017
 29234000009,Carduelis_chloris:11.367351604000012):6.333796112000002,Carpodacus_eryt
 hrinus:17.701147778000013):2.7953086460000023,Coccothraustes_coccothraustes:20.49645
 6401000017):5.573546571999973,Fringilla_coelebs:26.07000299799999):1.3532902390000
 28,((Emberiza_citrinella:13.099060423999994,Emberiza_schoeniclus:13.099060449999994):
 0.9614622850000085,Emberiza_tahapisi:14.060522702000004):13.362770453000014):4.247
 77571199996,((Passer_domesticus:6.956540571000004,Passer_montanus:6.95654056600000
 4):3.5657053799999847,Passer_griseus:10.522245926999988):21.14882295399999):3.88730
 5949000016,((((Cryptospiza_reichenovii:9.082970632999997,(Estrilda_nonnula:8.45182041
 0000002,Nesocharis_shellei:8.451820396000002):0.6311502579999946):2.9965223349999
 89,Spermophaga_haematina:12.079492969999986):9.521014608000002,((Euplectes_ardens:4.
 810523935000003,Euplectes_capensis:4.810523928000002):6.898286977999998,(Ploceus_b
 annermani:9.057955379999997,Ploceus_melanogaster:9.057955341999998):2.65085557300
 0003):9.891696652000006):11.064207790999948,Prunella_modularis:32.664715262999955)
 :2.893659445000004):3.884432874000005,((Nectarinia_bouvieri:16.176536089999995,(Necta
 rinia_olivacea:11.283490912,Nectarinia_oritis:11.283490911):4.8930452059999965):2.3007
 03476999999,Nectarinia_reichenowi:18.477239565999994):20.965568110000003):4.280796
 611000049):0.9090274779999703):5.831565460999947,Terpsiphone_rufiventer:50.4641971
 9699996);

Príloha 5: Kód fylogenetického stromu pro 136 temperátních a tropických druhů ve formátu Newick.

(((((((((((Acrocephalus_arundinaceus:10.433000449000005,(Acrocephalus_schoenobaenus:
 9.649306121999995,Acrocephalus_scipaceus:9.649306129999996):0.7836943240000096):2
 .5634169159999924,Hippolais_icterina:12.996417411999998):13.217681935000012,(Acroce
 phalus_palustris:17.42997233100002,((Bradypterus_bangwaensis:5.415037878999998,Brady
 pterus_lopezi:5.4150378639999985):9.077014413999997,(Locustella_fluviatilis:5.69385007
 0000012,Locustella_luscinoides:5.693850076000013):8.798202210999982):2.93792009000
 00235):8.784126927999992):3.080206082999986,(((Illadopsis_cleaveri:8.42234250699999
 8,Illadopsis_rufipennis:8.422342512999998):9.386501852000011,(Speirops_melanocephalus
 :1.4318435480000025,Zosterops_senegalensis:1.4318435560000025):16.377000787000007):
 1.6244598979999978,Kakamega_poliothorax:19.433304241000005):1.8171219709999704,((
 (Pseudoalcippe_abyssinica:9.581646436999996,Sylvia_borin:9.581646437999996):1.407998
 5480000232,Sylvia_atricapilla:10.989645012000018):3.6337912189999884,(Sylvia_commu
 nis:10.943140000999998,Sylvia_curruca:10.943139972999997):3.6802962300000104):6.626
 989956999969):8.04387922700002):1.5637793830000426,(((Apalis_cinerea:15.2442023319
 99997,(Camaroptera_brachyura:10.460528329999999,Camaroptera_chloronota:10.46052831
 4):4.783674037999997):3.6113559920000036,((Apalis_pulchra:11.865412976999999,Urolais
 _epichlorus:11.865412973999999):6.82000412700001,(Poliolais_lopezi:13.153053722000003
 ,Prinia_bairdii:13.153053725000003):5.5323633519999955):0.17014122600000192):1.3397
 969499999611,Cisticola_chubbi:20.19535530199996):10.662729522000078):1.51977721199
 99904,((((((((Andropadus_ansorgei:7.9833069689999965,Andropadus_curvirostris:7.9833069
 59999996):7.605917621000011,Andropadus_virens:15.589224584000007):2.818685528999
 996,(Criniger_calurus:10.668155611999998,Criniger_chloronotus:10.668155627999997):7.7
 39754465000006):1.1128710710000007,((Phyllastrephus_icterinus:7.051153424999998,Phyl
 lastrephus_xavieri:7.051153417999998):6.207438774000007,(Phyllastrephus_poensis:9.6296
 49147000004,Phyllastrephus_poliocephalus:9.629649133000003):3.6289430560000024):6.2
 62188956999999):1.1912730589999683,((Andropadus_montanus:13.468999661999999,Andr
 opadus_tephrolaemus:13.468999654999989):6.093090227000008,(Bleda_notatus:11.849843
 489999998,Bleda_syndactylus:11.849843484999997):7.712246446999998):1.149964311999
 9767):2.727209397000017,Andropadus_gracilirostris:23.439263616999999):3.390880148000
 001,Pycnonotus_barbatus:26.830143808999992):5.547718252000038):1.1052706839999544
 ,((((Delichon_urbicum:16.202447301999985,(Hirundo_fuligula:13.880126998000003,Hirund
 o_rustica:13.880127018000003):2.3223202309999813):2.439710796000025,Psalidoprocne_f
 uliginosa:18.64215808300001):0.41316966499999097,Riparia_riparia:19.055327742):11.514
 049078999975,(Hylia_prasina:24.603927313000007,((Phylloscopus_collybita:5.6036259879

99998,Phylloscopus_trochilus:5.603625975999998):8.095161472999997,Phylloscopus_herberti:13.698787482999995):10.905139862000013):5.965449468999967):2.9137558970000086):2.027416480000049,Macrosphenus_flavicans:35.510549253000003):1.8383933389999925,Paranus_biarmicus:37.348942529000003):5.020931937999961,(Elminia_albiventris:40.85704134799993,(((Parus_albiventris:15.704323876999988,(Parus_major:8.170952759999997,Parus_palustris:8.170952760999997):7.533371126999999):0.817679920000014,(Parus_ater:15.339603005999999,(Parus_cristatus:15.1087949729999991,Parus_montanus:15.108794949999991):0.230808018000000827):1.1824007760000015):2.548876391000018,Parus_caeruleus:19.070880135000002):17.553866800999955,Remiz_pendulinus:36.624746895999998):4.232294420999956):1.5128331070000556):2.374116370999957,((((((((Alethe_polioccephala:16.665694313,(((Cossypha_isabellae:13.632243044000013,Cossypha_niveicapilla:13.632243023000013):1.281573514999982,Sheppardia_bocagei:14.913816628999996):0.6334044739999971,Stiphronis_erythrothorax:15.547221057999993):1.1184732670000077):1.8088786420000105,((Erithacus_rubecula:16.857066783000015,((Luscinia_megarhynchos:13.107877112000011,Luscinia_svecica:13.107877121000012):3.4069053509999776,((Phoenicurus_ochruros:6.294055568000004,Phoenicurus_phoenicurus:6.2940555880000035):8.290678296999998,Saxicola_torquatus:14.584733904000002):1.9300485869999875):0.3422843500000248):1.313559640999955,((Muscicapa_adusta:6.598094282999996,Muscicapa_striata:6.598094288999995):0.7265208800000122,Muscicapa_sethsmithi:7.324615150000008):10.846011277999962):0.30394654700004153):7.722588362999986,((Turdus_merula:10.03263479999998,Turdus_pellio:10.032634803999981):3.5988847590000397,Turdus_philomelos:13.631519580000022):12.565641771999974):2.6073507670000353,Cinclus_cinclus:28.804512144000032):0.9034252619999918,Sturnus_vulgaris:29.707937412000025):9.244835715999926,(Certhia_familiaris:29.0558095,Troglodytes_troglodytes:29.055809453):9.896963667999952):4.376477271000098,(Regulus_ignicapilla:29.710058548000004,Regulus_regulus:29.710058613000004):13.619191821000008):0.5231508389999817,(((Anthreptes_fraseri:17.009819600999997,Anthreptes_rectirostris:17.009819605999997):2.607565744000002,((Nectarinia_bouvieri:16.329909677999986,(Nectarinia_olivacea:11.254598755000014,Nectarinia_oritis:11.254598768000013):5.07531093099997):2.3856575620000022,(Nectarinia_preussi:16.321246805999987,Nectarinia_ursulae:16.321246812999988):2.394320447999984):0.9018181220000301):19.97043583499994,((((((((Carduelis_cannabina:8.765313169999997,((Crithagra_burtoni:7.876177504999997,Crithagra_mozambicus:7.8761775139999965):0.6916257320000048,Serinus_serinus:8.567803265000002):0.1975099289999953):0.4576030830000004,((Carduelis_carduelis:7.537857941000012,Linurgus_olivaceus:7.5378579350000114):1.1272007239999935,Carduelis_fl

ammea:8.665058694000004):0.5578575879999921):2.1797160100000053,Carduelis_chloris:
 11.402632280000002):6.356134466999983,Carpodacus_erythrinus:17.758766740999985):2.
 7586093720000164,Coccothraustes_coccothraustes:20.517376155):5.624669477999987,Frin
 gilla_coelebs:26.142045617999987):1.3500126489999964,((Emberiza_citrinella:12.9613566
 79999996,Emberiza_schoeniclus:12.961356668999995):0.9570857999999962,Emberiza_tah
 apisi:13.918442470999992):13.573615775999993):3.1830415620000245,(Motacilla_alba:4.5
 25143751000002,Motacilla_cinerea:4.525143741000002):26.149956088000007):1.32733282
 79999816,((Passer_domesticus:7.010689644000003,Passer_montanus:7.010689652000003):
 3.6531692799999966,Passer_griseus:10.663858886999998):21.338573778999994):3.669284
 3620000133,(((((((Cryptospiza_reichenovii:6.445058926999996,Mandingoa_nitidula:6.4450
 58933999996):2.635731930000003,(Estrilda_nonnula:8.442842880000002,Nesocharis_shell
 eyi:8.442842857000002):0.6379479769999961):0.8338335979999982,(Nigrita_canicapillus:
 5.492378525000002,Parmoptila_woodhousei:5.4923785080000025):4.4222458969999945):2
 .1117872959999957,(Spermophaga_haematina:8.000144339000016,Uraeginthus_bengalus:8.
 000144331000017):4.026267384999976):1.2659348589999944,(Lonchura_bicolor:6.321350
 642999997,Lonchura_cucullata:6.321350631999997):6.97099594599999):8.3784762920000
 23,((Euplectes_ardens:4.833945195000002,Euplectes_capensis:4.833945214000002):6.8738
 99350999975,((((Ploceus_baglafecht:8.642313974999995,Ploceus_insignis:8.642313988999
 994):1.319788365000008,Ploceus_melanogaster:9.962102381000003):0.4739125939999979
 7,Ploceus_bannermani:10.436014964):0.09501688500000682,(Ploceus_bicolor:5.417665839,
 Ploceus_cucullatus:5.417665842):5.1133660040000075):1.17681270299999693):9.962978346
 000034):11.157701619999962,Prunella_modularis:32.82852450799997):2.84319249100003
 2):3.916104225999952):4.264579955000073):0.8915896359999138):5.898304797000073,((
 Campephaga_petiti:35.456673753999986,(Platysteira_concreta:12.803930057999967,(Platys
 teira_cyanea:10.323880289,Platysteira_laticincta:10.323880277999999):2.480049820999967
 7):22.652743676000014):4.147544503000063,Terpisiphone_rufiventer:39.604218242000044)
 :11.03807739399997):16.3790654829999,Smithornis_sharpei:67.02136099699992);

Príloha 6: Kód fylogenetického stromu pro 25 tropických druhů ve formátu Newick.

(((((Alethe_poliiocephala:16.67142997897897,Cossypha_isabellae:16.671430005004996):1.8
 17916889889922,Muscicapa_adusta:18.489346989990015):25.33874239639642,((((Nectari
 nia_preussi:9.127035962962964,Estrilda_nonnula:9.127035997997998):2.985435480480456

,Spermophaga_haematina:12.112471421421398):9.665958609609637,(Euplectes_capensis:11.80536270570572,Ploceus_melanogaster:11.805362710710725):9.973067318318309):13.843027344344353,Linurgus_olivaceus:35.6214574824825):3.904569296296259,((Nectarinia_olivacea:11.305413119119109,Nectarinia_oritis:11.30541313013012):7.326283113113126,Nectarinia_preussi:18.63169626726727):20.894330500500473):4.302062600600671):0.9273137017015429,((((((Apalis_cinerea:15.275916350350338,Camaroptera_chloronota:15.275916285285273):3.5863441721722147,(Poliolais_lopezi:18.172728590590616,Urolais_epichlorus:18.1727285775776):0.6895319129129192):9.094883899899898,((Illadopsis_cleaveri:8.430929483483487,Illadopsis_rufipennis:8.43092947747748):12.707521858858875,Pseudoalcippe_abyssinica:21.13845133233235):6.818693036036045):3.0922437287287003,(Bleda_notatus:20.844425932932907,(Phyllastrephus_icterinus:7.092553440440442,Phyllastrephus_xavieri:7.092553428428429):13.751872530530505):10.204962182182207):1.4093048408408535,Bradypterus_lopezi:32.45869292792794):9.994333658658668,Elminia_albiventris:42.45302654854857):2.3023764294292945):5.880536824824901,Terpisiphone_rufiventer:50.63593985385382);

Príloha 7: Kód fylogenetického stromu pro 26 temperátních druhů ve formátu Newick.

((((Acrocephalus_palustris:26.338544029029034,(Acrocephalus_schoenobaenus:9.667961845845857,Acrocephalus_scipaceus:9.667961868868879):16.670582142142138):2.993091096096105,Sylvia_atricapilla:29.331635131131147):4.038329871871838,((Delichon_urbicum:16.11901936036037,Hirundo_rustica:16.119019298298305):14.307575718718702,Phylloscopus_collybita:30.426595032032022):2.9433699169169074):8.850196131131177,(Parus_ater:16.322158652652657,Parus_major:16.322158661661664):25.89800243643646):2.3895820410409883,(((((((Carduelis_chloris:17.75558820720719,Carpodacus_erythrinus:17.755588202202183):2.774296817817831,Coccothraustes_coccothraustes:20.529885052052048):5.568947022022051,Fringilla_coelebs:26.098832031031055):1.3750276176175937,(Emberiza_citrinella:13.047383564564544,Emberiza_schoeniclus:13.047383546546527):14.426476190190211):4.34054078078076,(Passer_domesticus:7.040254483483484,Passer_montanus:7.04025450850851):24.774145986986966):3.777877966967008,Prunella_modularis:35.59227838838841):8.137491852852804,((Certhia_familiaris:28.98524644744744,Troglodytes_troglodytes:28.98524651551551):9.72197581181183,(Cinclus_cinclus:28.42423415215214,((Erithacus_rubecula:16.521390097097083,Phoenicurus_ochruros:16.52139007707706):9.24377964464464,Tu

rdus_merula:25.765169774774755):2.6590644034034128):10.282988136136158):5.0225479
84984946):0.8799728408408427);